

ББК 24.4
УДК 541.121/123+541.49: 51
М 54

Рецензенты:

В. Н. Зайцев, доктор химических наук, профессор,
заведующий кафедрой аналитической химии
(Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко)

Н. О. Мchedлов-Петросян, доктор химических наук, профессор,
заведующий кафедрой физической химии
(Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина)

Рекомендовано к печати Ученым советом
Харьковского национального университета
имени В. Н. Каразина, протокол № 7 от 27 июня 2008 г.

**Холин Ю. В., Никитина Н. А., Пантелеймонов А. В., Решетняк Е. А.,
Бугаевский А. А., Логинова Л. П.**

М 54 Метрологические характеристики методик обнаружения с бинарным откликом. — Х.: Тимченко, 2008. — 128 с.: илл. 18, табл. 45. — Библиогр.: 223 наименования.
ISBN 978-966-8661-35-8

В монографии обсуждены метрологические и вычислительные аспекты методик бинарного тестирования. Бинарное тестирование — частный случай качественного химического анализа. При бинарном тестировании заключение о присутствии или отсутствии аналита в пробе делают непосредственно по результатам применения методики (обычно с органолептической индикацией аналитического сигнала). В книге охарактеризованы области применения методик с бинарным откликом, изложены соображения по унификации и сокращению перечня характеристик, необходимых для их метрологической оценки, и сопоставлены вычислительные процедуры, используемые в данной области.

Монография предназначена для специалистов в области аналитической и экоаналитической химии, может быть использована преподавателями и студентами вузов.

ББК 24.4

© Холин Ю. В., Никитина Н. А.,
Пантелеймонов А. В., Решетняк Е. А.,
Бугаевский А. А., Логинова Л. П., 2008

ISBN 978-966-8661-35-8

© ЧП Тимченко А. Н., 2008

ВВЕДЕНИЕ

Качественный анализ сложился к началу XX в. как совокупность приемов разделения и специфических реакций, позволяющих определять элементный состав веществ, материалов, сырья, геологических и других объектов, а также обнаруживать те или иные ионы или отдельные неорганические вещества. Особый раздел составляло открытие функциональных групп органических соединений. Долгое время и качественный, и количественный анализ выполняли, по преимуществу, «мокрым путем», проводя химические реакции в растворах. Значительную часть теоретического фундамента и качественного, и классического количественного анализа составляла «теория ионных равновесий» [1–4]. В таких условиях оба вида анализа развивались параллельно и выступали как вполне равноправные. Характерный пример: на химическом факультете Харьковского госуниверситета им. А. М. Горького кафедры качественного и количественного анализа благополучно сосуществовали до 1961 г.

В преподавании качественного анализа, начиная с учебника Н. А. Меншуткина «Аналитическая химия», выдержавшего с 1871 г. по 1931 г. 16 изданий, основное внимание уделялось систематическому анализу катионов и анионов в растворах [5–8] (сначала по сероводородной, а затем по кислотнo-щелочной схеме). Нельзя не признать: обучение систематическому качественному анализу катионов и анионов имело большое дидактическое значение, развивая химическое мышление студентов. Но столь же очевидно, что постепенно проблематика, традиционно относимая (по крайней мере, в преподавании) к сфере качественного анализа, все более отдалялась от актуальных задач и подходов аналитической химии. Как результат, постепенно сокращались, а затем вовсе исчезли из вузовских учебников разделы, посвященные качественному анализу; статьи по этой тематике перекочевали сначала в методические издания для высшей школы,

а в конце концов нашли приют в практикумах для химико-биологических классов средних учебных заведений [9]. Могло показаться, что качественный анализ навсегда упокоился в химическом архиве — рядом с теорией флогистона и представлениями о неделимости атомов.

Однако пришло время, и он возродился, уже в новом обличье. В центрах хеометрии и хемоинформатики, вдали от лабораторий «мокрой химии», начиная с 80-х годов прошлого века, стали разрабатывать мощные компьютерно ориентированные методы для решения многообразных и сложных задач идентификации веществ и установления их молекулярной структуры. Развитие полевой аналитической химии («analysis on site»), растущая потребность в недорогом и быстром скрининг-анализе массовых проб стимулировали разработку и внедрение методик обнаружения самых разных аналитов.

Сегодняшний качественный анализ — раздел аналитической химии, решающий задачи **обнаружения** и **идентификации** аналитов; результатом анализа является логическое заключение (да/нет) [10]; ГОСТ Российской Федерации [11] определяет качественный анализ так: «Экспериментальное установление факта присутствия или отсутствия аналита в пробе при заданном пороговом значении его содержания». Учитывая неустойчивость терминологии, необходимо четко определить используемые понятия. Под «идентификацией» будем понимать заключение о тождественности анализируемого и известного объектов или о принадлежности аналита некоторому классу объектов на основе соответствия их свойств¹. «Обнаружение» — вывод о присутствии определенного аналита в исследуемой пробе. Как указывает Б. Мильман [13], «следует проводить различие между идентификацией аналита и его обнаружением, поскольку последнее представляет собой ре-

1 Ср. с определениями: «Идентификация — это установление вида и состояния молекул, ионов, радикалов, атомов и др. частиц на основе сопоставления эксперим. данных с соответствующими справочными данными для известных частиц» [12]; «Chemical identification is considered to be assigning an analyte (analytical signal) to one of the set of known individual chemical compounds or to a group/class of compounds based on matching their properties» [13].

гистрацию аналитического сигнала без решающего заключения о его природе».

При идентификации с помощью информационно-поисковых систем аналиты опознают по совпадению их свойств с характеристиками известных объектов (эталонов) или определяют структуру вещества по совокупности спектральных и других характеристик [14].

При решении задач обнаружения отвечают на вопросы «Загрязнено ли попавшее в продажу подсолнечное масло *нефтью?*», «Принимал ли спортсмен *определенный запрещенный препарат?*», «Превышает ли ПДК содержание *тяжелых металлов* в минеральной воде?». Как по постановке задач, так и по методологии их решения разделы качественного анализа не отделены пропастью. Так, в обоих случаях уместен статистический анализ надежности выводов, поскольку и при идентификации, и при обнаружении возможны ошибочные заключения. Говоря словами авторов книги [14], «признание компонента опознанным должно сопровождаться оценкой неопределенности идентификации, подобно тому, как результат количественного анализа сопровождается оценкой его погрешности. В обоих случаях выводы имеют вероятностный характер и должны сопровождаться количественными оценками».

При идентификации и обнаружении могут использоваться аналитические системы и методики двух типов: а) непосредственно приводящие к тому или иному заключению (методики с бинарным окликом и б) формирующие заключение на основе обработки массивов первичных количественных данных, полученных инструментальными методами. В методиках с бинарным окликом аналитический сигнал чаще всего регистрируют органолептически (в большинстве случаев визуально). Применяются и методики, использующие для измерения сигнала инструментальные методы. Тогда бинарное заключение формулируется на основе сравнения величины аналитического сигнала с некоторым пороговым значением. При решении задач обнаружения большее распространение получили методики с бинарным откликом, тогда как при идентификации обычно используют подходы, в которых изоэкранные

хеометрические средства, алгоритмы нечеткой логики, системы искусственного интеллекта, искусственные нейронные сети, обращение к базам данных формируют из массивов «сырых» экспериментальных данных интересующий пользователя бинарный отклик. Идентификация и обнаружение аналитов на основе обработки массивов данных, полученных инструментальными методами, сформировалось в мощное междисциплинарное направление на стыке аналитической химии, хеометрии, спектроскопии, хеоминформатики, структурной органической химии и метрологии [14].

Резко возросшие в последние два десятилетия требования к обеспечению качества измерений при анализе объектов окружающей среды, пищевых продуктов, клинической диагностики стимулировали развитие химической метрологии [15–17] и инициировали разработку соответствующих международных и национальных руководств и стандартов. Фундаментальные понятия химической метрологии — количественные характеристики «измеряемая величина» («measurand»), «неопределенность» («uncertainty»), а также «прослеживаемость» («traceability», «единство измерений») [17]. Эти понятия — ключевые и в общей метрологии, и неудивительно, что выяснению их сходства и различия в физической и химической метрологии уделялось немалое внимание [18].

В то же время, при обостренном внимании к качеству анализа, при широчайшем использовании скрининга, при интенсивном внедрении компьютерных систем идентификации веществ метрологическое обеспечение качественного анализа (применительно к задачам как идентификации, так и обнаружения) до недавнего времени значительно отставало. На остроту проблемы метрологии качественного анализа недавно обращал внимание академик Ю. А. Золотов [19]. Очевидно, что метрологические основы качественного и количественного анализа не могут не иметь существенных отличий, хотя бы потому, что такую количественную характеристику, как неопределенность, в область качественного анализа можно внедрить лишь искусственно. Рабо-

ты по метрологии качественного анализа активно публикуются в международной печати лишь в последние годы (см., например, [20–27]). Растущий интерес к этой области аналитической химии стимулировал выполнение проекта MEQUALAN [21], метрологии качественного анализа был посвящен отдельный номер журнала «Trends in Analytical Chemistry» (2005, V. 24, No 6), ею занимается «Qualitative Analysis Working Group», совместная рабочая группа EURACHEM (A Focus for Analytical Chemistry in Europe) и CITAC (Cooperation on International Traceability in Analytical Chemistry). Совсем недавно опубликована первая монография, полностью посвященная идентификации веществ в химическом анализе (Мильман Б. Л. Введение в химическую идентификацию. — СПб.: ВВМ, 2008. — 180 с.). Уже получены серьезные результаты, развивающие как метрологию качественного анализа в целом, так и, в особенности, создающие необходимую основу для применения систем компьютерной многофакторной идентификации химических объектов. Достигнуто широкое согласие относительно главного принципа метрологии качественного анализа: любое логическое заключение об идентификации или обнаружении аналита должно сопровождаться количественной оценкой (статистической, эвристической или априорной) вероятности ошибок ложной идентификации отсутствующего вещества и/или пропуска присутствующего аналита [14]. В то же время, метрологические вопросы применения методик с бинарным откликом по-прежнему остаются недостаточно разработанными [28]. Более того, рост публикаций по метрологии качественного анализа привел к углублению расхождений в терминологии и подходах к определению метрологических характеристик методик с бинарным откликом, а обеспечение надежности расчетных процедур осталось, фактически, за рамками дискуссии.

В настоящей монографии кратко охарактеризованы области применения методик с бинарным откликом, изложены соображения по унификации и сокращению перечня характеристик, необходимых для их метрологической оценки, и сопоставлены

вычислительные процедуры, используемые в данной области. Развиваемая нами методология в значительной степени основана на работах отечественных химиков-аналитиков, публиковавшихся начиная с 50-х годов XX века (укажем, например, на работы Н. П. Комаля, А. А. Бугаевского, А. Б. Бланка, Р. П. Панталера). Уместно заметить, что многие из полученных ими результатов сегодня заново переоткрываются зарубежными исследователями¹.

1 Например, авторитетные авторы во введении к работе [28] отмечают: «В этой статье предлагается новый подход к определению области ненадежности... представлен общий метод, основанный на построении графика зависимости вероятность-концентрация...». Фактически, в работе [28] воспроизводятся предложения Н. П. Комаля, обсуждавшего концентрационную зависимость вероятности обнаружения аналита в «области ненадежной реакции» [1].

ГЛАВА 1. КАЧЕСТВЕННЫЕ ТЕСТ-МЕТОДЫ

1.1. Качественные тесты и скрининг массовых проб

Широкое внедрение тест-методов стало ответом на неуклонно растущие запросы к экспресс-анализу и анализу на месте. Тест-методы — экспрессные, простые и дешевые приемы обнаружения и определения веществ на месте [29–31]. Как правило, они не требуют сложных приемов подготовки пробы к анализу, использования громоздкого и сложного лабораторного оборудования и привлечения обученного персонала. В обиход прочно вошли понятия «тестирование», «тест-средство», «тест-система», «тест-методика», «тест-форма» [32]. Коммерчески доступны тысячи типов тест-систем таких фирм-производителей, как Merck, CHEMetrics, Millipore, Riedel-de-Haen, Macherey-Nagel, Hack, LaMotte, ЭКО-НИКС, Мультифан, КРИСМАС+, ВИНАР, Инновационные биотехнологии, Мед-Экотест и других [32–34]. Широкое распространение получили тест-системы для анализа общей жесткости воды, щелочности, перманганатной окисляемости, ионов алюминия, хрома (VI), марганца (II), железа (II), железа (III), кобальта (II), никеля (II), меди (II), цинка (II), свинца (II), суммы тяжелых металлов, сульфид-, нитрит-, нитрат-, хлорид-, йодид-, фторид-, фосфат-, силикат-ионов, ионов аммония, фенолов, формальдегида, поверхностно-активных веществ, гумусовых кислот, нитратного и аммонийного азота, нефтепродуктов.

С помощью тест-систем выполняют и качественный, и полуколичественный анализ, причем тест-методы, разрабатываемые аналитиками России и Украины, чаще всего предназначены для полуколичественного определения, тогда как в мировой практике тест-методы применяют преимущественно для обнаружения интересующих потребителя аналитов.

Тест-методы качественного анализа составляют ядро методологии скрининга (просеивания); часто между качественными

тестами и методами скрининга различия не проводят. Так, согласно [35], «a screening method is a process that extracts, isolates and identifies a compound or group of components in a sample with the minimum number of steps and the least manipulation of the sample. More basically, a screening method is a simple measurement providing a “yes/no” response».

Скрининг занимает чрезвычайно важное место в массовом анализе однотипных проб. Его проводят, «когда контролируемый компонент присутствует не во всех пробах или, точнее, если присутствует, то в концентрациях ниже нормируемой или заданной каким-то иным способом» [36].

О значении скрининга говорит тот факт, что в источниках, реферируемых системой SCOPUS, только за 2002–2008 годы отражены более 450000 публикаций со словом «скрининг» в реферате. Скрининг широко используется в клинической химии, при решении задач промышленной гигиены, в контроле психотропных и наркотических веществ, при обеспечении безопасности пищевых продуктов и оценке токсичности объектов окружающей среды, в сигнальном контроле промышленных загрязнителей, вредных и отравляющих веществ, диверсионных ядов, при контроле результатов комбинаторного синтеза и во многих других областях [37–51].

Скрининг разделяет массив образцов на группы, содержащие и не содержащие аналит (одно вещество или класс веществ) в концентрации, превышающей некоторое заранее установленное значение. В литературе используются термины «specification limit» — допускаемое значение, «preset threshold», «threshold value», «threshold limit», «cut-off value» — пороговое значение, «maximum permissible limit», «maximum permitted level», «permitted level» — предельно допустимый уровень и др. [10, 22–26]. Все пробы, давшие положительный результат, далее обычно подвергают количественному анализу каким-либо специфическим методом, а отрицательные результаты принимают как окончательные (рис. 1.1) [22, 36, 52].

В соответствии с такой методологией, скрининг находится в основании пирамиды прослеживаемости измерений («traceability

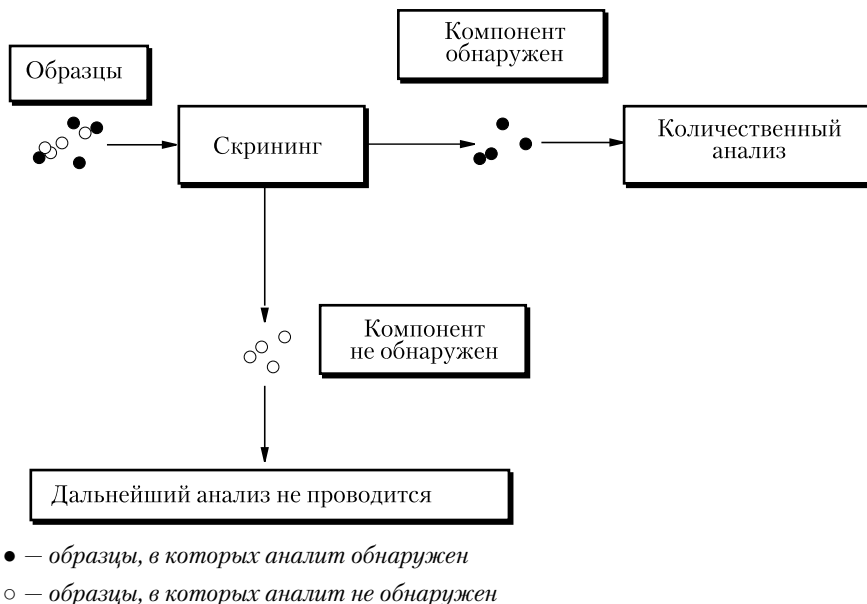


Рис. 1.1. Схема скрининга



Рис. 1.2. Система прослеживаемости измерений в качественном анализе

ругamid») [21]. Схема, приведенная на рис. 1.2, схематически отражает цепочку измерений, не касаясь прослеживаемости на уровне самих скрининг-тестов.

Ложный отрицательный результат, как правило, гораздо важнее ложного положительного [22, 52], поскольку необнаружение целевого аналита может повлечь за собой крайне отрицательные последствия. Правда, возможны и такие ситуации, когда ложный положительный результат считают более опасным. Например, при допинг-контроле спортсменов обычно стараются минимизировать риск необоснованных обвинений [23].

Отметим, что по смыслу и назначению к бинарным качественным тестам близки «предельные пробы», используемые для контроля чистоты материалов [53]. Примером широкого использования такого подхода является контроль качества лекарств. Испытания на предельное содержание примесей является обязательным разделом современных Фармакопей. Контроль содержания примеси «под допуск» проводится на основе сравнения аналитических сигналов (включая сигналы, воспринимаемые органолептически) от анализируемой пробы и единственного образца сравнения. В образце сравнения задают такое содержание примеси, которое соответствует требованиям потребителя (например, к безопасности продукции). Чтобы вероятность выпуска брака была достаточно малой, необходимо, чтобы содержание примеси в образце сравнения было меньше предельно допустимого на определенную величину. Разница между нормируемым и фактически допускаемым (при разбраковке продукции) содержанием примеси в материале есть «тот запас качества», который обеспечивает заданный уровень риска потребителя продукции в случае использования для анализа «предельной пробы» [53]. Введенное разработчиками бинарных тестов понятие порогового уровня по смыслу аналогично понятию задаваемого уровня концентрации примеси — в «предельной пробе».

1.2. Химические тест-средства

При скрининге используют химические, биохимические и биологические методы [32, 34, 52, 54–58]. Аналитическим сигналом может быть возникновение или изменение окраски при хромогенной реакции, возникновение либо тушение флуоресценции, образование осадка, появление запаха, ускорение или ингибирование ферментативных реакций, изменения в жизнедеятельности организмов и др. [34, 59–61].

В основу биохимических (ферментных) методов положено свойство аналитов (ионов металлов, органических токсикантов и т. д.) ингибировать ферментативные процессы. Особое значение эти методы имеют для клинического анализа и допинг-контроля. Биотестирование и биоиндикация с помощью бактерий, микроводорослей и высших растений является уникальным методом оценки интегральной токсичности объектов окружающей среды [62, 63].

Подробнее остановимся на химических методах. Чаще всего они основаны на реакциях аналитов с хромогенными реагентами и допускают визуальную индикацию аналитического сигнала. В работах [32, 34] изложены основные требования к используемым реакциям и методикам:

- селективность по отношению к одному веществу или классу веществ;
- низкий предел обнаружения;
- простота регистрации и устойчивость аналитического сигнала, контрастность хромогенной реакции;
- экспрессность (в частности, высокая скорость хромогенной реакции);
- простота манипуляций и исключение консервации проб;
- устойчивость аналитических форм при хранении.

Химия методов скрининга весьма богата и включает реакции комплексообразования, окисления-восстановления, ионного обмена, кислотно-основные реакции, характерные реакции на функциональные группы и др. В реакциях используют хорошо

зарекомендовавшие себя в аналитической практике кислотно-основные и металлоиндикаторы, реагенты с реакционными функциональными группами, некоторые неорганические соединения, ферменты [32, 34, 64]. «Ноу-хау» разработчиков и производителей тест-систем состоит обычно в подборе и рациональной комбинации реагентов, стабилизации смесей реагентов и растворов, в уменьшении мешающих влияний путем добавления маскирующих агентов.

В качестве сред для проведения реакций обнаружения применяют реагентные индикаторные бумаги, пенополиуретан, полиакриламид, желатиновые пленки, органо-кремнеземные гибридные материалы, индикаторные трубки, растворы [34, 52, 64–70]. Для закрепления аналитического реагента на матрице используют импрегнирование в матрицу раствора модификатора, ковалентную и нековалентную иммобилизацию органических и неорганических реагентов на сорбенте.

Реагентные индикаторные бумаги. Работы В. М. Островской и соавт. [34, 64, 71, 72], Ю. А. Золотова, В. Г. Амелина и соавт. [32, 52, 73–75], А. Б. Бланка, Р. П. Панталера и соавт. [67, 68, 76–80], Т. Н. Шеховцовой и И. Ф. Долмановой и соавт. [81–84], а также многих других отечественных и зарубежных исследователей посвящены созданию разнообразных тест-средств с использованием реагентных индикаторных бумаг (РИБ) на основе целлюлозы (рис. 1.3).

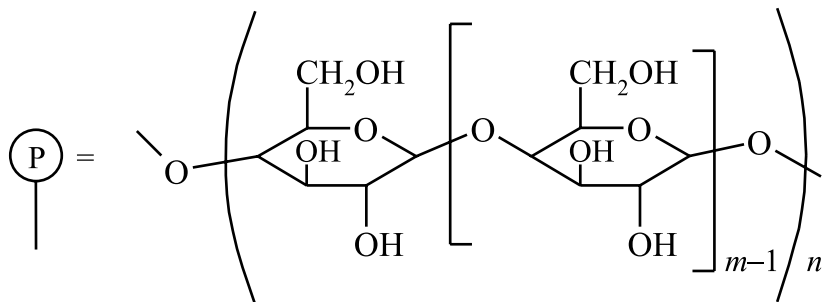


Рис. 1.3. Фрагмент молекулы целлюлозы, $n = (2000 \div 16000) / m$, $m = 10 \div 300$

Для обнаружения ионов металлов используют как реакции комплексообразования [71, 72, 77, 80, 85, 86], так и окислительно-восстановительные реакции [76, 78, 87]. Стараются снизить предел обнаружения аналита, используя механические устройства для концентрирования [32, 34, 71], применяя многослойные индикаторные бумаги [34] и «вытеснительные реакции» [85], позволяющие повысить избирательность анализа.

Для определения анионов применяют РИБ с закрепленными восстановителями, например, тиокетоном Михлера — для определения активного хлора [79]; азосоединениями — для определения нитрит-ионов [72].

Хлорорганические пестициды ДДТ, альдрин, хлордан, эндо-сульфан можно обнаруживать в овощах по появлению окрашенных пятен на индикаторной бумаге, пропитанной раствором *o*-толидина в ацетоне, после контакта ее с влажным срезом растения. Похожим образом определяют содержание нитратов в овощах.

Пенополиуретаны (ППУ) характеризуются мембранной ячеистой структурой полимерной матрицы, содержащей уретановую, амидную, сложноэфирную, простую эфирную, мочевиновую, концевую толуидиновую группы (рис. 1.4).

В синтезе ППУ в качестве исходных продуктов используют многоатомные спирты с молекулярной массой 400–6000 Дальтон и смеси 2,4- и 2,6-изомеров толуолдиизоцианата, при этом образуются ППУ на основе простых и сложных эфиров. Химическая природа ППУ влияет на эффективность сорбции веществ разных классов [88–92].

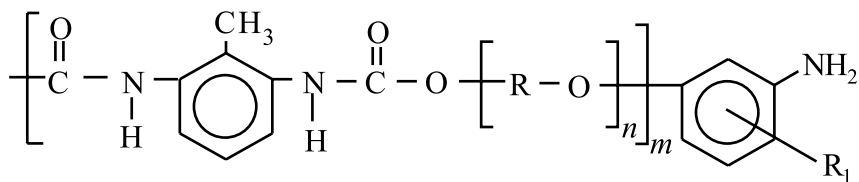


Рис. 1.4. Фрагмент молекулы ППУ, где $[\text{R-O}]_n$ — эфирное звено,
 $\text{R}_1 = 2\text{-CH}_3, 6\text{-CH}_3$

Сорбционное концентрирование позволяет значительно снизить пределы обнаружения без использования каких-либо устройств [88, 90]. Обычно применяют физический способ иммобилизации реагентов на ППУ, так как химическое закрепление, осуществляемое при синтезе ППУ, весьма трудоемко [89]. Перед иммобилизацией некоторых реагентов (дифенилкарбазида, диметилглиоксима) проводят предварительное пластифицирование таблеток ППУ три-*n*-октиламином, что повышает удерживание и способствует равномерному распределению реагента в фазе ППУ [32, 89].

Окрашенные соединения в матрице ППУ получают разными способами [89]. Во-первых, это сорбция окрашенных соединений или продуктов реакции, образовавшихся в анализируемом растворе. Например, при анализе ионов Co(II) , Fe(III) , Ti(IV) используется сорбция тиоцианатных комплексов голубого, красного и желтого цветов соответственно [93]; описаны сорбция окрашенных в красный цвет ионных ассоциатов трис-(1,10-фенантролин)железа (II) с додецилсульфат-ионами [94]; сорбционное концентрирование окрашенных в красный или желтый цвет азосоединений, образовавшихся в растворе в результате взаимодействия салициловой, 4-гидроксibenзойной, галловой, ванилиновой и кофейной кислот с 4-нитрофенилдиазонием [95].

Во-вторых, используют образование окрашенного соединения определяемого компонента с аналитическим реагентом, иммобилизованным на ППУ. Например, Ni(II) сорбируется из аммиачного буферного раствора пенополиуретаном, модифицированным диметилглиоксимом; Cr(VI) образует продукт красного цвета с дифенилкарбазидом, иммобилизованным на ППУ [93]. Также сорбируют бесцветные соединения на ППУ и далее обрабатывают сорбент подходящим реагентом. Примером может служить появление синего окрашивания сорбента после обработки красителем бромфеноловым синим белых таблеток пенополиуретана с предварительно сорбированным на нем катионным ПАВ [96].

Наконец, возможно образование окрашенных соединений за счет химического взаимодействия аналитов с концевыми толуи-

диновыми группами ППУ. Например, при взаимодействии нитрит-ионов, активного хлора или формальдегида с ППУ фиксируют появление желтой окраски [92, 97, 98].

Тест-формы на основе органо-кремнеземных гибридов.

В тестовом анализе важное место занимают материалы на основе кремнезема, не подверженные набуханию, обеспечивающие высокую скорость массообмена, объединяющие свойства кремнезема как твердого тела с химической индивидуальностью закрепленного реагента [99].

Простейший метод иммобилизации реагентов — нековалентное закрепление на поверхности кремнезема. Используют импрегнирование (пропитку кремнеземной матрицы раствором модификатора) [34] или сорбцию реагента на поверхности кремнезема или модифицированного кремнезема [99–102]. Индикаторные порошки на основе адсорбционно модифицированных кремнезёмов применяли для обнаружения и определения Co(II) [103–105], Cu(II) [106, 107], Ag(I) [107, 108], Zn(II) [106], Fe(II) [107], Hg(II) , Pb(II) [108] и других аналитов. Многие материалы, получаемые при нековалентном закреплении модификаторов (особенно импрегнированием) недостаточно устойчивы к вымыванию органических реагентов [34]. Для расширения ассортимента тест-средств и повышения устойчивости к вымыванию модификаторов используют силикагели с предварительно адсорбированными на их поверхности четвертичными аммониевыми основаниями [34, 109].

Широко применяют также золь-гель технологию [32, 99, 110–118], причем если в золь-гель процессе использовать функционализированные алкоксисиланы, то можно добиться ковалентного закрепления органического модификатора в матрице ксерогеля. При использовании золь-гель технологии модификатор вводят на стадии образования золя — в процессе каталитического гидролиза кремнийорганического прекурсора (алкоксисилана) в водно-спиртовой среде. Далее гель высушивают в течение достаточно продолжительного времени (от суток до 1–2 месяцев). Сократить время высушивания позволяет применение микроволнового излучения [112]. Для ускорения гелеобразования применяют водные

растворы неорганических кислот [110, 114], аммиака [115, 116], фтороводородной кислоты, гексафторосиликата или фторида аммония [111, 112, 117]. Модифицированные ксерогели в виде индикаторных порошков или наполнителей индикаторных трубок широко использовали в неорганическом и органическом тест-анализе [99, 111, 112, 117–122].

Модифицированные желатиновые пленки — еще один тип тест-средств. Желатин представляет собой полидисперсную смесь низкомолекулярных полипептидов (рис. 1.5).

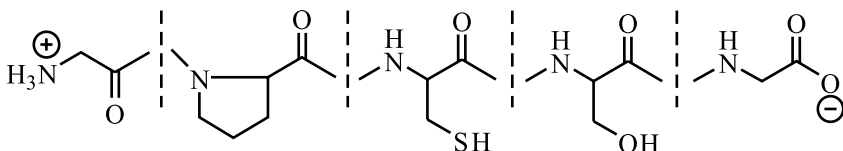


Рис. 1.5. Фрагмент молекулы желатина

Молекулы желатина резко анизотропны и асимметричны. Желатин — типичный амфолит. Изоэлектрическая точка щелочного желатина находится в интервале pH 4.8–5.1. При этой кислотности все основные группы желатина несут положительный заряд, а большинство карбоксильных групп диссоциированы и несут столько же отрицательных зарядов. Полимер, фактически, содержит объемную сетку зарядов и некоторое количество свободных ионов, связанных с этой сеткой. Желатин при любых значениях pH представляет собой смесь структур, различающихся зарядом. Изоэлектрическая точка при этом является усредненной характеристикой [123].

Желатиновые пленки по своей эластичности подобны резине. Это свойственно спиральям, образованным длинными цепями молекул, соединенных между собой ограниченным числом поперечных связей. На основе полимерного массива с подобной структурой можно получать матричные системы с достаточно однород-

ным распределением иммобилизованного вещества, причем его молекулы остаются стерически доступными. Этим создаются благоприятные условия для протекания различных химических процессов с участием иммобилизованного реагента [123]. Желатин как микропористое вещество обладает весьма развитой поверхностью, благодаря чему при контакте с водным раствором в его массив проникает как растворитель, так и растворенные химические реагенты. Вода, проникая в желатиновый массив, вызывает его изотропное набухание [124].

С использованием индикатора сульфородамина 101, внедренного в желатиновый гель, было разработано [125] тест-средство для определения влажности воздуха. Путем иммобилизации аналитических реагентов в желатиновом слое фотопленок приготовлены индикаторные пленки для обнаружения и тест-определения лекарственных веществ нитроксолина [126], аналгина, аскорбиновой кислоты [127]. В желатиновом слое фотопленок закрепляют реагенты для проведения реакций диазотирования и азосочетания, что составляет основу функционирования тест-систем для обнаружения и определения нитритов и первичных ароматических аминов [128, 129].

В качестве тест-метода может использоваться и тонкослойная хроматография (ТСХ). В этом случае обнаружению способствуют не только специфичность хромогенного реагента, но и хроматографическое разделение целевого компонента и возможных примесей и веществ, составляющих основу анализируемой матрицы, которые могут давать такое же окрашивание, как и целевой компонент. Так, с помощью ТСХ проводился анализ остатков пестицидов в пищевых продуктах [47].

Можно полагать, что и в дальнейшем запросы практики будут расширять область применения методологии скрининга, разработку и внедрение новых тест-средств.

ГЛАВА 2. МЕТРОЛОГИЯ СКРИНИНГА

2.1. Метрологические характеристики, используемые при валидации аналитических методик

При валидации методик анализа используют большой набор метрологических характеристик. Рекомендации различных международных организаций и национальных органов (Всемирной организации здравоохранения, EURACHEM, Международной организации по стандартизации (International Standard Organization, ISO), Международного союза чистой и прикладной химии (International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC), фармакопей США и Британии и других органов) отличаются как используемой терминологией, так и перечнем характеристик. В СНГ утверждены общеметрологические рекомендации по оценке неопределенности измерений [130] и рекомендации по оценке показателей методик анализа [131]. В документах [130–134], а также в стандарте ISO и соответствующем российском аналоге [135] используются, в частности, такие показатели:

- **точность** (accuracy) — степень близости результата анализа к истинному (или в его отсутствие — принятому опорному) значению;

- **правильность** (trueness) — степень близости среднего значения, полученного на основе большой серии результатов единичного анализа, к истинному (или в его отсутствие — принятому опорному) значению;

- **прецизионность** (precision) — степень близости друг к другу результатов единичных анализов, полученных в конкретных регламентированных условиях, показателями которой служат **повторяемость** (repeatability) и **воспроизводимость** (reproducibility);

- **приписанная характеристика погрешности** — величина, характеризующая гарантируемую точность методики анализа;

– **неопределенность** (эквивалент приписанной характеристики погрешности, *uncertainty*) — параметр, связанный с результатом анализа и характеризующий разброс значений, которые с достаточным основанием могут быть приписаны измеряемой величине;

– **систематическая погрешность** (*bias, recovery*) — разность между математическим ожиданием результатов измерений и истинным (или в его отсутствие — принятым опорным) значением;

– **принятое опорное значение** — значение, которое служит в качестве согласованного для сравнения. В качестве опорного значения могут быть приняты:

- а) теоретическое или научно установленное значение;
- б) аттестованное значение стандартного образца;
- в) аттестованное значение аттестованной смеси;
- г) математическое ожидание измеряемой характеристики, т. е. среднее значение заданной совокупности результатов анализа — лишь в том случае, когда а), б) и в) недоступны;

– **погрешность результата анализа** — отклонение результата анализа, полученного по аттестованной методике, от истинного (или в его отсутствие — принятого опорного) значения.

Кроме того, в разработанном Ассоциацией аналитических центров «Аналитика» Национальном стандарте Российской Федерации, документах IUPAC, EURACHEM/CITAC, учебной литературе [136–140] находим показатели:

– **чувствительность** (*sensitivity, sensitivity coefficient*) — значение первой производной градуировочной характеристики при данном содержании аналита или, в общем случае, изменение отклика измерительного прибора, деленное на соответствующее изменение входного сигнала;

– **предел обнаружения** (*limit of detection*) — наименьшее содержание аналита, при котором он может быть обнаружен по данной методике анализа вещества или материала с заданной вероятностью;

– **предел определения** (*limit of determination, limit of quantitation, limit of quantification*) — наименьшее содержание аналита,

которое может быть количественно определено с помощью данной методики анализа вещества или материала с установленными значениями характеристик погрешности или неопределенности;

- **устойчивость** (robustness, ruggedness) — способность методики давать приемлемые по точности и сходимости результаты при небольшом изменении условий ее применения;

- **селективность/специфичность** (selectivity/specificity) — средства выражения степени влияния веществ матрицы пробы на результаты анализа по данной методике.

Перечисленные показатели достаточно четко определены и имеют вполне определенные области использования. Важнейшим параметром, характеризующим качество измерений, считают неопределенность. Причина этого — тот факт, что «неопределенность фундаментальным образом влияет на решения, основанные на результатах измерений» [141]. В России и на Украине введены в действие нормативные документы [142, 143], согласно которым «неопределенность» стала обязательной характеристикой результатов измерений.

К внедрению концепции неопределенности в течение последних 15 лет приложили большие усилия многие организации и отдельные исследователи, «методологию неопределенности приняли на вооружение ведущие международные организации метрологов, химиков-аналитиков, специалистов по аккредитации лабораторий» [144]. Формальные правила оценивания и выражения неопределенности результатов измерений были разработаны еще в 1993 г. под эгидой Международного комитета мер и весов, Международной электротехнической комиссии, Международной организации по стандартизации, Международной организации по законодательной метрологии, Международного союза по чистой и прикладной физике, Международного союза чистой и прикладной химии и Международной федерации клинической химии [145]. В 1995 г. EURACHEM опубликовал руководство [139], в котором концепция неопределенности адаптирована к аналитическим измерениям. В 2000 г. вышло новое издание этой книги. Она переведена на русский, итальянский, португальский, шведский,

испанский и литовский языки, готовится немецкое издание. Ценность руководства [139] в том, что оно не просто содержит формальные определения и правила оценивания неопределенности, но, главное, на примерах, относящихся к различным аналитическим методам, детально разбирает источники неопределенности и их вклад в суммарную оценку.

2.2. Метрологические характеристики методик обнаружения с бинарным откликом

Учитывая растущее значение скрининга и наличие перечня общих метрологических характеристик методик анализа, легко понять желание специалистов в области качественного анализа распространить методологию, хорошо разработанную для количественного анализа, на новую область, сохранив, по возможности, и используемую терминологию. К сожалению, задача эта представляется практически неразрешимой, поскольку при использовании терминологии вне той области, для которой она была разработана, неизбежно возникает путаница, а довольно простые понятия неоправданно усложняются. Так, European Cooperation for Accreditation of Laboratories основным параметром для валидации методик предлагает считать неопределенность [22], а дискуссионный документ EURACHEM/CITAC предлагает дополнительно оценивать чувствительность, воспроизводимость и селективность/специфичность методик [146]¹. Перечень некоторых характеристик, предложенных в разное время для описания методик скрининга (методик качественного анализа с бинарным откликом) приведен в табл. 2.1.

Еврокомиссия рекомендует характеризовать предел обнаружения, селективность / специфичность и устойчивость методики [150] (полагают [151], что в качественном анализе устойчивость особенно важна, поскольку тестовые анализы, как правило,

1 Сообщается [147], что рабочая группа EURACHEM в настоящее время разрабатывает рекомендации по метрологии качественного анализа, но сроки подготовки этого документа неизвестны.

Таблица 2.1. Некоторые характеристики методик качественного анализа с бинарным откликом

Характеристика, английский термин и обозначение		Определение, формула
1	2	3
Положительный результат	Positive, P	Наличие аналитического сигнала (отличие сигналов анализируемого и холостого образцов)
Отрицательный результат	Negative, N	Отсутствие аналитического сигнала (совпадение сигналов анализируемого и холостого образцов)
Правильный положительный результат	True positive, TP	Положительный результат при заведомом присутствии аналита в пробе
Правильный отрицательный результат	True negative, TN	Отрицательный результат при заведомом отсутствии аналита в пробе
Ложный положительный результат	False positive, FP	Положительный результат при заведомом отсутствии аналита в пробе
Ложный отрицательный результат	False negative, FN	Отрицательный результат при заведомом присутствии аналита в пробе
Число правильных положительных результатов	N_{TP}	
Число ложных отрицательных результатов	N_{FN}	
Число ложных положительных результатов	N_{FP}	
Число правильных отрицательных результатов	N_{TN}	
Вероятность ошибки I рода	α	Вероятность ложного заключения об отсутствии аналита A
Вероятность ошибки II рода	β	Вероятность ложного заключения о присутствии аналита A
Достоверность (надежность)	Reliability, R	$R = 100 - \alpha - \beta$, где α и β выражены в %
Частота ложных отрицательных результатов	False negative rate, FNR , $\hat{\alpha}$	$\hat{\alpha} = N_{FN} / (N_{FN} + N_{TP})$
Частота ложных положительных результатов	False positive rate, FPR , $\hat{\beta}$	$\hat{\beta} = N_{FP} / (N_{FP} + N_{TN})$

Продолжение табл. 2.1

1	2	3
Частота правильных положительных результатов (чувствительность)	True positive rate, <i>TPR</i> (sensitivity)	$TPR = N_{TP} / (N_{TP} + N_{FN})$
Частота правильных отрицательных результатов (специфичность)	True negative rate, <i>TNR</i> (specificity)	$TNR = N_{TN} / (N_{TN} + N_{FP})$
Прогностичность положительного результата	Positive predictive value, <i>PPV</i>	$PPV = N_{TP} / (N_{TP} + N_{FP})$
Прогностичность ложного результата	Negative predictive value, <i>NPV</i>	$NPV = N_{TN} / (N_{TN} + N_{FN})$
Эффективность	Efficiency, <i>E</i>	$E = \frac{N_{TP} + N_{TN}}{N_{TP} + N_{TN} + N_{FP} + N_{FN}}$
Индекс правдоподобия	Likelihood ratio, <i>LR</i>	$LR = (1 - FNR) / FPR$
Индекс Юдена	Youden index, <i>YI</i>	$YI = 100(TPR + TNR - 1)$
Предел обнаружения	<i>LOD</i> , minimum detectable net concentration (<i>ISO</i>), detection limit or limit of detection (<i>IUPAC</i> , <i>EURACHEM</i> , <i>British Pharmacopoeia</i> , <i>United States Pharmacopoeia</i>)	Предел обнаружения — «минимальное количество искомого компонента (в мкг или нг), которое может быть надежно идентифицировано: для растворов используется величина предельной концентрации $C_{x,min}$ или обратная ей величина предельного разбавления D_x (предельный объем раствора, который приходится на 1 мкг определяемого компонента» [148].
Уверенно открываемый минимум (абсолютная чувствительность)		«Минимальное количество открываемого иона, которое дает во всех случаях вполне отчетливый положительный эффект реакции при оптимальных условиях ее проведения» [149].
Предельное разбавление, минимальное разбавление		«Минимальная концентрация раствора, при которой реакция дает заметный результат» [1].
Предел идентификации, открываемый минимум		Концентрация, при превышении которой вероятность обнаружения аналита превышает 50% [1].

выполняет неквалифицированный персонал). Интересно, что иногда проводят тонкое различие между понятиями «robustness» (качественная оценка устойчивости анализа при небольшом варьировании контролируемых аналитиком условий его выполнения) и «ruggedness» (оценка устойчивости при изменении не зависящих от аналитика условий, таких, как температура лаборатории, освещенность рабочего места, производитель реактива и т. п.) [151]. В статье [151] описано планирование эксперимента для исследования устойчивости результатов качественного анализа и представлены интересные соображения о влиянии различных факторов на этот параметр. Очевидно, в метрологии скрининга такая характеристика, как устойчивость, необходима. Как и в метрологии количественного анализа, ее обычно рассматривают как качественную.

Поскольку тест-системы часто используются для полуколичественного анализа, уместно упомянуть об особенностях понятия «нижняя граница диапазона определяемого содержания» для тест-методов, основанных на хромогенных реакциях. В национальном стандарте Российской Федерации [136] под этой границей понимают «минимальное значение содержания аналита в пробе, которое может быть определено по данной методике анализа вещества или материала». Аналогом выступает введенное в документах Американского химического общества понятие «quantification limit» — наименьшее количество аналита, которое можно надежно определить с определенной степенью достоверности [152–155].

Для построения цветовых шкал для тест-методов предлагается использовать метод цветометрии [156–158]. Расчеты проводят в равноконтрастной колориметрической системе CIELAB (1976 г.), где координатами цвета являются величины L , A и B [157]:

$$L = 116(Y/Y_0)^{1/3} - 16, \quad (2.1)$$

$$A = 500[(X/X_0)^{1/3} - (Y/Y_0)^{1/3}], \quad (2.2)$$

$$B = 200[(Y/Y_0)^{1/3} - (Z/Z_0)^{1/3}], \quad (2.3)$$

X, Y, Z — координаты цвета в системе XYZ [158]. Для регистрации изменения цвета введены новые аналитические параметры, которые зависят от координат цвета: ΔL — цветовое различие по светлоте, ΔS — цветовое различие по насыщенности, ΔE — разнооттеночность:

$$\Delta L = L_0 - L, \quad (2.4)$$

$$\Delta S = [(A - A_0)^2 + (B - B_0)^2]^{1/2}, \quad (2.5)$$

$$\Delta E = [(L_0 - L)^2 + (A - A_0)^2 + (B - B_0)^2]^{1/2}, \quad (2.6)$$

где индекс 0 относится к холостому опыту.

Цветовые характеристики рассчитывают на основании спектров поглощения или отражения сорбентов.

Уравнение (2.6) называется уравнением общего цветового различия и используется при построении цветовых шкал [34, 157]. Значения ΔE изменяются в диапазоне от 0 до 100 условных единиц, одной единице ΔE соответствует один порог цветоразличения. Шкалу строят таким образом, чтобы шаг концентрации соответствовал $\Delta E = 10$. В связи с тем, что зависимость ΔE от концентрации имеет вид логарифмической кривой, то при постоянном шаге ΔE получают изменение содержания определяемого компонента в геометрической прогрессии [32, 34]. При создании тест-шкалы важно не выходить за границы степени насыщенности тест-образца (20–60 %), иначе оттенки плохо различимы глазом. В этом подходе за нижнюю границу определяемых концентраций принимают разность концентраций, соответствующих тест-образцам с цветовым различием ΔE в 10 условных единиц, при нулевой концентрации аналита в одном из образцов [34].

Фундаментальное свойство методик обнаружения с бинарным откликом — невозможность приписать результату «да» или «нет» численную погрешность — исключает использование «неопределенности» как характеристики методики. А это означает, что перечень характеристик, полезных для оценивания неопределенности

количественного анализа, в случае качественного анализа должен быть обновлен.

Вместо «неопределенности» в качестве количественной характеристики свойств методики предложено использовать «недоверенность»¹ (unreliability) [21, 159]. Высокой достоверности методики соответствует низкая доля ошибочных заключений о присутствии или отсутствии аналита [160].

Оценка достоверности должна основываться на том, что заключение о присутствии или отсутствии аналита в пробе — результат испытания некоторой статистической гипотезы H_0 .

Нулевую гипотезу формулируем следующим образом [160]:

- H_0 : образец содержит аналит **A**;
- альтернативная гипотеза \bar{H}_0 : образец не содержит **A**.

При такой формулировке нулевой гипотезы ложное заключение об отсутствии аналита **A** является ошибкой I рода. Ошибочное принятие гипотезы H_0 представляет собой ошибку II рода. Согласно рекомендациям [161], выражение «ошибка первого рода» следует употреблять для обозначения той из двух возможных ошибок, которой важнее избежать².

Согласно [21, 160], достоверность (R , %) можно определить как

$$R = 100 - \alpha - \beta, \quad (2.7)$$

где α и β — вероятности ошибок I и II рода (%), соответственно. Для практического применения наиболее ценны методики с низкой вероятностью ошибки I рода, низкая вероятность ошибок II рода также желательна.

1 При переводе термина «unreliability» как «недоверенность» учитывали определение [136], согласно которому «методика анализа вещества [материала] ... — документированная совокупность операций и правил, выполнение которых обеспечивает получение результата анализа вещества [материала] с установленными характеристиками погрешности [неопределенностью] или — для методик качественного анализа — установленной достоверностью».

2 Альтернативная формулировка гипотез — H_0 : аналит **A** отсутствует и \bar{H}_0 : аналит **A** присутствует — целесообразна только в отдельных случаях, когда ложный положительный результат опаснее ложного отрицательного. Например, так формулируют нулевую гипотезу при скрининг-контроле спортсменов на применение допинга [23].

Достоверность и другие метрологические характеристики методики определяют разными способами.

Один из них подробно описан в работах [21, 160]. Для набора образцов, заведомо содержащих аналит **A**, по результатам испытаний находят число правильных положительных (N_{TP}) и ложных отрицательных результатов (N_{FN}), а по ним — частоту ложных отрицательных результатов

$$\hat{\alpha} = N_{FN} / (N_{FN} + N_{TP}). \quad (2.8)$$

Значение $\hat{\alpha}$ дает выборочную оценку вероятности ошибки I рода α .

Для набора образцов, заведомо не содержащих аналит **A** (точнее, содержащих лишь следовые количества **A**), определяют число правильных отрицательных (N_{TN}) и ложных положительных (N_{FP}) результатов, а по этим данным — частоту ложных положительных результатов

$$\hat{\beta} = N_{FP} / (N_{FP} + N_{TN}). \quad (2.9)$$

Значение $\hat{\beta}$ дает выборочную оценку вероятности β ошибки II рода.

Зная N_{FN} , N_{TP} , N_{FP} и N_{TN} , легко рассчитать, помимо $\hat{\alpha}$ и $\hat{\beta}$, и ряд других метрологических характеристик, как тех, название которых совпадает с названиями параметров, используемых в метрологии количественного анализа, так и специфических для качественного анализа (табл. 2.1). Представляется, что подавляющее большинство этих характеристик не несет какой-либо новой информации, существенной для суждений о методике обнаружения; они введены в стремлении провести параллели с общей химической метрологией.

Поскольку частоты ложных результатов — случайные биномиально распределенные величины, число испытаний, необходимое для определения α или β с заданной точностью, легко рассчитать. Например, для оценки $\alpha = 5\%$ с относительным стандартным

отклонением 20% при доверительной вероятности 95% нужно выполнить 1825 испытаний [160]. Чем выше достоверность методики, тем больше испытаний требуется для получения сколь угодно точной численной оценки β .

Второй подход к оценке достоверности методик с бинарным откликом основан на изучении зависимости вероятности обнаружения аналита (P) от его концентрации (c) (рис. 2.1). Такие зависимости называют «кривыми эффективности» (в англоязычной литературе используют термины «performance characteristic curve», «probability-concentration graph», «probability graph», «sensitivity curve» [22, 25, 28, 52, 59, 162–164]). Принимают, что кривые эффективности — неубывающие, ограниченные 0 и 1 функции. Этот постулат основан на обобщении многочисленных экспериментальных данных, но нельзя исключить гипотетическую ситуацию, когда зависимость $P(c)$ имеет максимум.

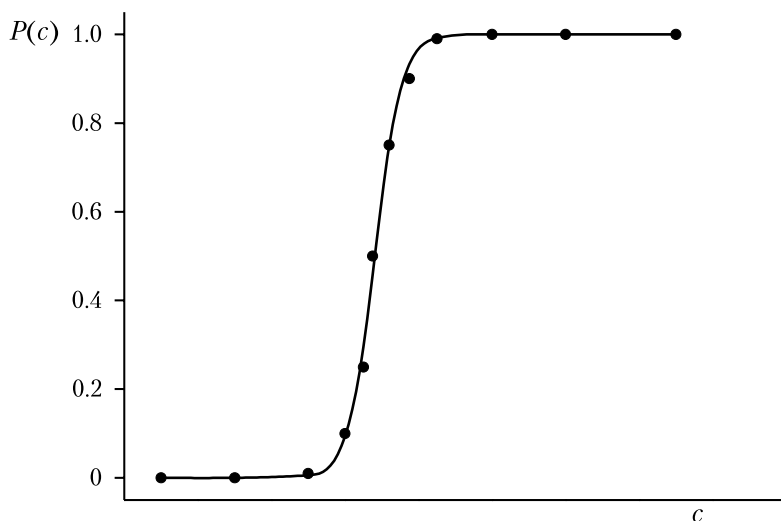


Рис. 2.1. Кривая эффективности

Важно, чтобы кривые эффективности получали при фиксированных условиях эксперимента — размере капель смешиваемых

растворов в капельных методах, порядке их смешивания, температуре, длительности, освещении (в визуальных методах) и т. п.

Очевидно, что вероятность ошибки I рода

$$\alpha = 100 - P(c). \quad (2.10)$$

Первым исследование кривых эффективности предпринял Н. П. Комарь [1], и этот подход получил значительное распространение в работах отечественных исследователей (см., например, [65, 67, 68, 70, 165]).

В идеальном случае кривая эффективности представляет собой единичную смещенную функцию Хевисайда

$$P(c) = \begin{cases} 0, & c < c^*; \\ 1, & c > c^*, \end{cases} \quad (2.11)$$

где c^* — некоторая пороговая концентрация. В этом случае методика с бинарным откликом всегда приводит к обнаружению аналита при $c > c^*$ (область нулевой вероятности ошибки I рода) и к выводу о его отсутствии при $c < c^*$ (область нулевой вероятности ошибки II рода).

На практике пороговая концентрация размывается в **интервал ненадежности (Δc)**. Интервал ненадежности — интервал концентраций аналита, в которой методика обнаружения для части идентичных проб приводит к положительному заключению о присутствии аналита, а для части — к отрицательному. В этом случае вместо одной пороговой концентрации c^* приходится обсуждать левую и правую границы интервала ненадежности. На существование такого интервала обратил внимание еще 100 лет назад Ф. Эмих [166], а детальные исследования были начаты Н. П. Комарем [1]. В англоязычной литературе указания на важнейшую роль интервала ненадежности появились почти 50 лет спустя [167].

Согласно [28, 160], границами интервала ненадежности (нижней и верхней пороговыми концентрациями) предлагается считать такие концентрации $c_{5\%}$ и $c_{95\%}$, для которых вероятности обнаружения аналита больше 5% и меньше 95% соответственно (концентрацию $c_{95\%}$ часто называют пределом обнаружения).

Учитывая многообразие предлагаемых метрологических характеристик, неустойчивость и, в ряде случаев, противоречивость используемой терминологии, актуально формирование ограниченного перечня характеристик с точным их определением. При этом важно исключить неверное понимание терминов.

Ключевой метрологической характеристикой методики обнаружения с бинарным откликом мы предлагаем считать **интервал ненадежности**. Поскольку при скрининге более важно избежать ошибки I рода, в качестве верхней границы целесообразно **принять $c_{99\%}$ (при концентрациях, превышающих $c_{99\%}$, $\alpha < 1\%$), а нижним пороговым значением можно считать $c_{5\%}$** .

Особо следует обсудить принципиальное для аналитической химии понятие предела обнаружения [153, 168–171]. Согласно [152], пределом обнаружения называется «наименьшее содержание аналита, при котором он может быть обнаружен по данной методике анализа вещества или материала с заданной доверительной вероятностью» (ср. с определением ИЮПАК: «the minimum single result which, with a stated probability, can be distinguished from a suitable blank value» [168]). Иными словами, пределом обнаружения считают минимальное содержание аналита, которое можно обнаружить (но не определить количественно) по данной методике. Значение предела обнаружения находят, основываясь на теории проверки статистических гипотез и оценке вероятности ложных положительных и ложных отрицательных выводов [169].

Хотя определение, детализированное для количественного анализа («за предел обнаружения обычно принимают содержание аналита, равное сумме результата холостого опыта и его стандартного отклонения, умноженного на коэффициент, соответствующий заданной доверительной вероятности (например, для $P = 0.99$, $K = 3$)» [152]), нельзя соотнести с характеристиками методик с бинарным откликом¹, ничто не мешает пользоваться более общим определением и для методик обнаружения с бинарным откликом

1 А. Б. Бланк [172] предлагает понятие «предел обнаружения» считать характеристикой исключительно качественного анализа, а в метрологии количественного анализа использовать только предел определения.

пределом обнаружения считать правую границу интервала ненадежности, т.е. концентрацию аналита, при превышении которой вероятность ошибки I рода меньше 1%.

Учитывая, что из нескольких методик для практического применения предпочтительнее та, для которой интервал ненадежности меньше, полезной вспомогательной характеристикой может служить относительная ширина интервала ненадежности [69] $\Delta c / c_{99\%}$.

Нельзя не согласиться с предложением [21, 151] отказаться в метрологии методик с бинарным откликом от понятия «неопределенность» и заменить его «недоверностью». Вместе с тем, принимая во внимание различную значимость ошибок I и II рода, выражение для достоверности (R), включающее вероятности обеих ошибок (уравнение (2.7)), вряд ли можно признать вполне удачным. Мы предлагаем **«недоверность» связывать только с вероятностью более значимой ошибки — ошибки I рода**. В этом случае понятие достоверности вполне соответствует прикладной аналитической задаче, а выражение для R приобретает исключительно простой вид:

$$R_{\text{обнаружения}} = 100 \cdot P(c), \%, \quad (2.12)$$

Недоверность в таком случае равна $(100 - R), \%$.

Достоинством подхода, основанного на анализе образцов, содержащих аналит в концентрации, несколько меньшей пороговой, и не содержащих аналит (точнее, содержащей следовые количества, намного меньшие порогового значения), считают ограниченное число испытаний. Однако в последнее время наблюдается тенденция не ограничиваться при исследовании свойств методики экспериментами только с двумя уровнями фактора (аналит присутствует или аналит отсутствует), а выполнять испытания при нескольких уровнях концентраций аналита в области ненадежности (и ниже предписанного порогового значения). При испытаниях, выполненных для концентраций аналита, находящихся в интервале ненадежности, теряют определенность такие характеристики,

как «правильный положительный результат», «правильный отрицательный результат», «ложный положительный результат», «ложный отрицательный результат», и связанные с ними. Чтобы сохранить привычную терминологию, прибегают к довольно искусственному приему [10, 21]: сам интервал ненадежности более или менее произвольно разделяют на подынтервалы ложных положительных, неопределенных и ложных отрицательных результатов (рис. 2.2).

На наш взгляд, с учетом экспрессности, дешевизны и невысокой трудоемкости тест-методов целесообразно сделать следующий шаг — **всегда** оценивать метрологические характеристики методик с бинарным откликом по результатам изучения характеристических кривых. Информация, извлекаемая из характеристических кривых, наиболее полно характеризует методику обнаружения.

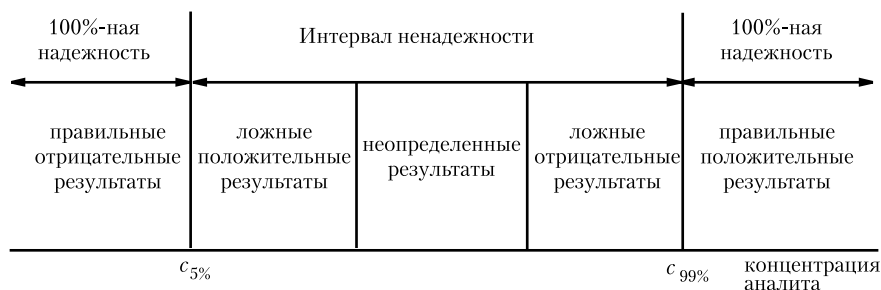


Рис. 2.2. Разбиение интервала ненадежности на подынтервалы

Способ выяснения устойчивости результатов анализов в таком случае вполне очевиден: достаточно оценить варьирование параметров характеристических кривых и находимых с их использованием границ интервала ненадежности при варьировании условий эксперимента. Еще одним доводом в пользу подхода, основанного на анализе кривых эффективности, служит радикальное упрощение понятийного аппарата и терминологии, используемой в данном разделе качественного анализа.

ГЛАВА 3. ПРИНЦИПЫ И РАСЧЕТНЫЕ ПРОЦЕДУРЫ ПОДБОРА КРИВЫХ ЭФФЕКТИВНОСТИ

3.1. Подходы к выбору функций, аппроксимирующих концентрационную зависимость вероятности обнаружения аналита

На практике кривую эффективности подбирают как функцию, аппроксимирующую эмпирическую зависимость частот обнаружения $P^{\text{эмп}}$ от c . Для получения такой зависимости выбирают несколько (M) концентраций c_i внутри интервала ненадежности, для каждой из них проводят N_i испытаний, фиксируют число положительных результатов (n_i) и вычисляют эмпирическую частоту обнаружения аналита

$$P_i^{\text{эмп}} = \frac{n_i}{N_i}. \quad (3.1)$$

Для аппроксимации зависимости $P^{\text{эмп}}$ от c можно, в принципе, использовать любую неубывающую функцию, ограниченную 0 и 1. Такими свойствами обладают, например, интегральные функции распределения случайных величин [173].

Н. П. Комарь принимал, что зависимость $P^{\text{эмп}}$ от c описывает функция нормального распределения [1]. Веских аргументов в пользу такого выбора Н. П. Комарь не приводил, да и до настоящего времени выбор функций, аппроксимирующих неубывающие и ограниченные 0 и 1 зависимости, остается довольно произвольным (указывают только, что «естественно выбрать ... какую-либо дифференцируемую функцию распределения, определенную на всей действительной прямой [174]).

Впоследствии для воспроизведения зависимостей $P^{\text{эмп}}$ от c стали применять также функции логнормального, экспоненциального, логистического распределений, распределения экстремального

значения первого рода (Вейбулла) [65, 68, 69, 79, 80, 175–177]. Высказывались мнения, что различные функции близки по качеству аппроксимации экспериментальных данных [160]. По мнению А. Б. Бланка, «... в подавляющем большинстве случаев результаты эксперимента не противоречат гипотезе о нормальном распределении, которое и используют для оценки средней открываемой концентрации, вероятного отклонения и предела обнаружения» [172].

Снижению трудозатрат и повышению надежности определения метрологических характеристик по кривым эффективности помогло бы ограничение набора выражений для описания зависимостей $P(c)$ лишь несколькими рекомендованными к применению функциями.

Возможный путь решения этой задачи, по крайней мере, для методик с визуальной индикацией, связан с теоретическим анализом различий в цветовосприятии наблюдателей в зависимости от условий проведения хромогенных реакций и со свойствами детектора (например, глаза) с учетом разброса его свойств. В зависимость вероятности обнаружения аналита от концентрации интересно было бы ввести и параметры, определяющие влияние концентраций сопутствующих компонентов. Это — оригинальное направление, требующее большого объема эксперимента. К сожалению, в настоящее время доступны лишь отрывочные данные [34, 178, 179], недостаточные для построения работоспособных моделей, и лишь недавно появились указания на то, что вид зависимости $P(c)$ в большей мере связан с типом хромогенной реакции, чем со средой, в которой реакция проводится [69, 175].

Другой подход требует проанализировать на значительном массиве методик обнаружения с бинарным откликом применение различных функций, описывающих кривые эффективности, и рекомендовать для практического использования те, которые в большинстве случаев адекватно воспроизводят зависимости $P^{\text{эмп}}$ от c . При этом для расчета подгоночных параметров аппроксимирующих функций необходимы надежные вычислительные процедуры.

3.2. Вычисление параметров функций, представляющих кривые эффективности

Рассмотрим основные способы определения параметров характеристических функций и оценки адекватности аппроксимации зависимостей $P^{\text{эмп}}$ от c .

В период, когда компьютеры еще не стали рутинным средством анализа данных, были предложены [65, 176] остроумные графические методы подбора функций, описывающих кривые эффективности, и расчета их параметров. Множество возможных функций ограничили двухпараметрическими функциями распределения, допускающими линеаризацию зависимостей откликов Y от c (либо $\ln c$). Отклики Y находят по экспериментальным $P^{\text{эмп}}$. Если испытываемая функция распределения описывает результаты измерений, зависимость $Y = f(c)$ (либо $Y = f(\ln c)$) близка к линейной; подгоночные параметры функции легко найти по параметрам соответствующего уравнения прямой. Напротив, если наблюдаются систематические отклонения откликов Y от прямой линии, делают вывод о невозможности использовать испытываемую функцию для представления кривой эффективности. Визуализация делает выводы наглядными и вполне убедительными.

Графические методы применяли для проверки соответствия эмпирических данных функциям нормального, логнормального, экспоненциального распределений и распределения экстремального значения первого рода (Вейбулла).

Пусть зависимость $P(c)$ описывает функция нормального распределения

$$P(c) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^c \exp\left[-\frac{(x-\bar{c})^2}{2\sigma^2}\right] dx. \quad (3.2)$$

Подгоночными параметрами выступают \bar{c} — первый начальный момент (математическое ожидание) и σ^2 — второй центральный момент (дисперсия). Если выполнить автомасштабное преобразование c

$$u = \frac{c - \bar{c}}{\sigma}, \quad (3.3)$$

то зависимость $P(u)$ описывает функция стандартного нормального распределения (с нулевым средним и единичной дисперсией):

$$P(u) = \Phi(u) \equiv \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^u \exp\left[-\frac{x^2}{2}\right] dx. \quad (3.4)$$

Тогда функция, обратная функции стандартного нормального распределения, возвращает значения u :

$$\Psi[P(c)] = u = \frac{c - \bar{c}}{\sigma}. \quad (3.5)$$

Следовательно, если за отклики Y принять $\Psi[P(u)]$, будет наблюдаться линейная зависимость

$$Y_i \equiv \Psi(P_i^{\text{эмп}}) = -\frac{\bar{c}}{\sigma} + \frac{1}{\sigma} c_i. \quad (3.6)$$

Построив график в координатах $\Psi(P_i^{\text{эмп}}) - c_i$, легко оценить, насколько хорошо функция нормального распределения описывает результаты наблюдений, и оценить параметры \bar{c} и σ . Заметим, что функция нормального распределения охватывает и бессмысленные отрицательные значения c_i , и недостижимые очень большие, что можно принять, если вклад от недостижимых областей пренебрежимо мал.

Пусть кривую эффективности выражает функция логарифмически нормального (логнормального) распределения

$$P(c) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \int_0^c \exp\left[-\frac{(x - \ln \bar{c})^2}{2\sigma^2}\right] dx. \quad (3.7)$$

Принимая за отклики Y величины $\Psi[P(u)]$, получаем:

$$Y_i \equiv \Psi(P_i^{\text{эмп}}) = -\frac{\ln \bar{c}}{\sigma} + \frac{1}{\sigma} \ln c_i. \quad (3.8)$$

По близости к прямой линии графика зависимости $\Psi(P_i^{\text{эмп}})$ от $\ln c_i$, легко оценить, насколько хорошо функция логарифмически нормального распределения описывает результаты наблюдений, а по коэффициентам уравнения прямой — найти параметры $\ln \bar{c}$ и σ . Поскольку в логнормальном распределении от концентраций перешли к их логарифмам, бессмысленная область отрицательных концентраций отсутствует.

Графическим методом проверяли возможность использовать функцию экспоненциального распределения

$$P(c) = 1 - \exp\left(-\frac{c-a}{b}\right), \quad a > 0, b > 0. \quad (3.9)$$

Параметр a определяет концентрацию, ниже которой вероятность обнаружения равна 0. Наличие такой граничной концентрации выглядит вполне разумным, поскольку во многих методиках обнаружения при малых концентрациях аналита положительный результат (например, помутнение раствора вследствие образования осадка) просто невозможен. Значение параметра b задает ширину области, в которой $P(c_i)$ существенно отличается от 0 и 1, т. е. характеризует ширину интервала ненадежности.

Уравнение (3.9) легко линеаризуется:

$$\ln \frac{1}{1-P(c)} = -\frac{a}{b} + \frac{1}{b}c. \quad (3.10)$$

Проверяя применимость функции экспоненциального распределения, строят зависимость откликов $Y_i \equiv \ln \frac{1}{1-P_i^{\text{эмп}}}$ от c_i , а по значениям коэффициентов уравнения прямой оценивают параметры a и b .

Наконец, был предложен графический способ проверки возможности представлять зависимость $P(c)$ функцией распределения экстремального значения первого рода

$$P(c) = \begin{cases} 1, & c < a, \\ 1 - \exp\left[-\left(\frac{c-a}{b}\right)^k\right], & a \leq c < \infty, \end{cases} \quad (3.11)$$

где a, b, k — параметры. Легко видеть, что экспоненциальное распределение — частный случай распределения экстремального значения первого рода для $k = 1$. Параметры a и b имеют тот же смысл, что и в случае экспоненциального распределения, а параметр k определяет форму кривой (рис. 3.1).

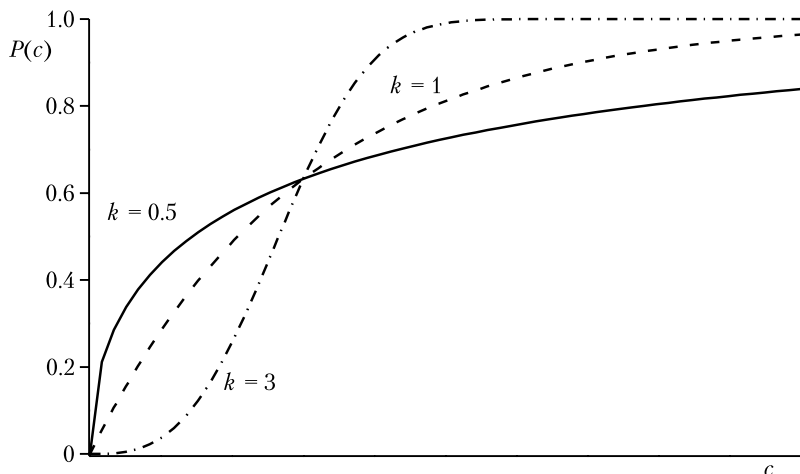


Рис. 3.1. Функция распределения экстремального значения первого рода ($a = 0$) при различных значениях k

В частном случае $a = 0$ зависимость $P(c)$ линеаризуется. В результате преобразований получаем:

$$\ln \ln [1 - P(c)] = -k \ln b + k \ln c. \quad (3.12)$$

Для проверки согласия экспериментальных данных с функцией распределения экстремального значения первого рода строят график зависимости

$$Y_i \equiv \ln \ln (1 - P_i^{\text{эмп}}) = -k \ln b + k \ln c_i. \quad (3.13)$$

Проиллюстрируем использование графических методов при подборе функции, описывающей кривую эффективности обнаружения пестицида 3,4-дихлоранилина (ДХА) в речной воде (табл. 3.1) [180]. Методика включала экстракционное концентрирование, разделение и анализ методом тонкослойной хроматографии на Al_2O_3 .

Таблица 3.1. Частоты обнаружения ДХА (концентрации относятся к экстракту)

$c_i, \text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$	N_i	n_i	$P_i^{\text{эмп}}$
30	73	9	0.123
40	73	17	0.233
60	92	50	0.543
80	92	67	0.728
100	92	78	0.848
150	92	89	0.967

Данные для построения графиков представлены в табл. 3.2, а сами графики — на рис. 3.2–3.5.

Таблица 3.2. Данные для графической проверки возможности представить кривую эффективности обнаружения ДХА различными функциями распределения

$c_i, \text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$	$\ln c_i$	$P_i^{\text{эмп}}$	$\ln \frac{1}{1 - P_i^{\text{эмп}}}$	$\ln \ln (1 - P_i^{\text{эмп}})$	$\Psi(P_i^{\text{эмп}})$
30	3.40	0.123	0.13	-2.03	-1.16
40	3.69	0.233	0.27	-1.33	-0.73
60	4.09	0.543	0.78	-0.24	-0.11
80	4.38	0.728	1.30	0.26	0.61
100	4.61	0.848	1.88	0.63	1.03
150	5.01	0.967	3.42	1.23	1.84

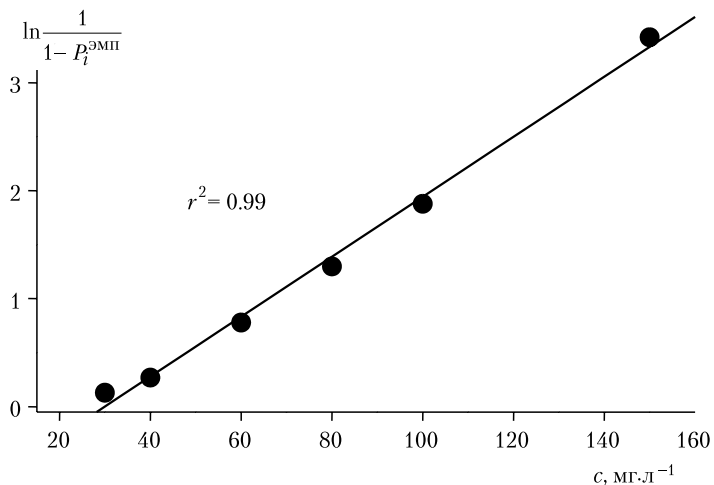


Рис. 3.2. Проверка возможности описать кривую эффективности обнаружения ДХА функцией экспоненциального распределения. Здесь и далее r — коэффициент корреляции

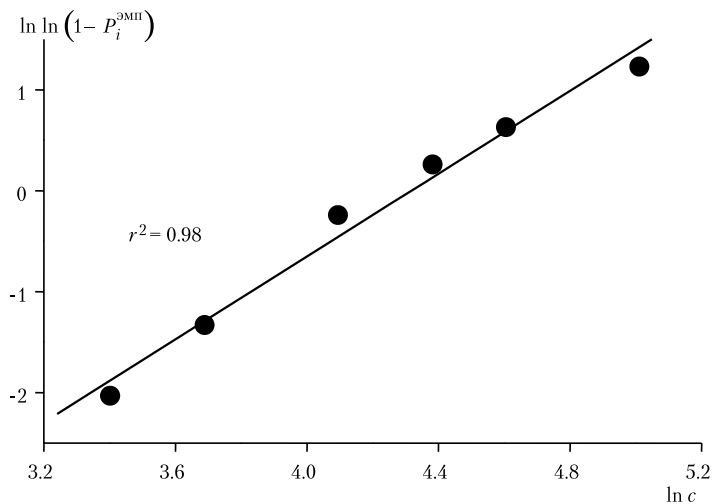


Рис. 3.3. Проверка возможности описать кривую эффективности обнаружения ДХА функцией распределения экстремального значения первого рода

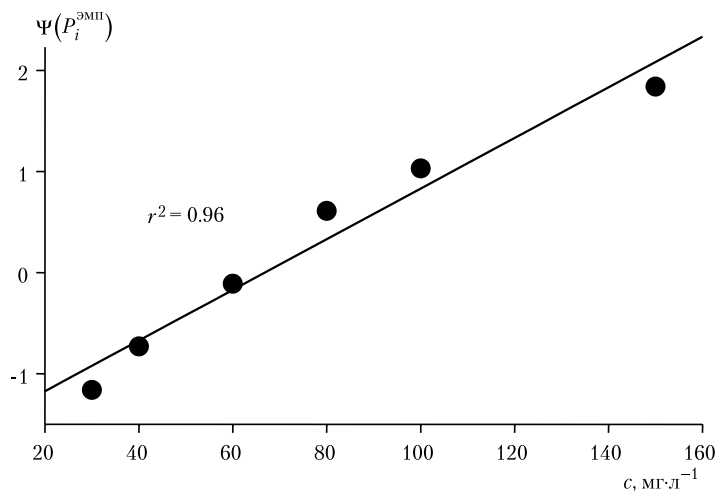


Рис. 3.4. Проверка возможности описать кривую эффективности обнаружения ДХА функцией нормального распределения

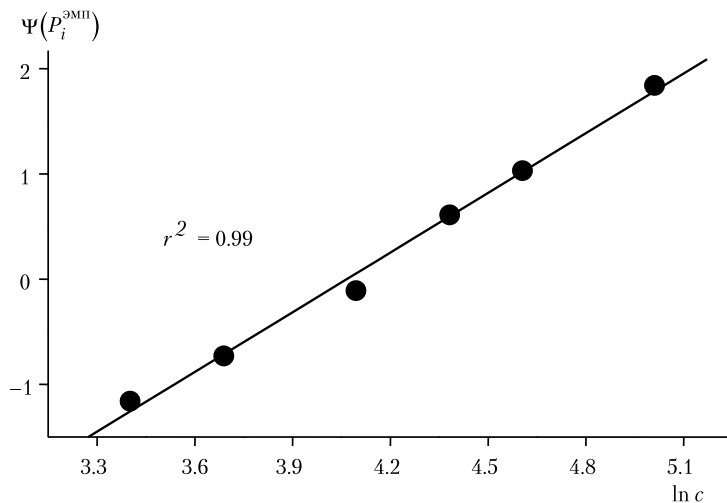


Рис. 3.5. Проверка возможности описать кривую эффективности обнаружения ДХА функцией логарифмически нормального распределения

Лучше всех согласуется с данными наблюдений функция экспоненциального распределения, ненамного уступает ей функция логнормального распределения; в случае функций нормального распределения и распределения экстремального значения первого рода (Вейбулла) точки отклоняются от прямых, проявляя заметную кривизну. Если считать, что оценка согласия линейаризованных зависимостей $P^{\text{эмп}}$ от c и выбранных функций распределения по графику «на глазок» слишком груба, можно опираться на коэффициенты корреляции или пользоваться критерием χ^2 .

Уравнение прямой для функции экспоненциального распределения, найденное линейным методом наименьших квадратов (МНК), имеет вид

$$Y = -0.83 (0.09) + 2.8 \cdot 10^{-2} (1 \cdot 10^{-3}) c. \quad (3.14)$$

Здесь и далее в скобках после значений параметров приводятся их стандартные отклонения. Нетрудно рассчитать параметры функции распределения: $a = 30 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$, $b = 36 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ и границы интервала ненадежности: $32 - 196 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$.

Нелишне заметить, что представляющееся естественным определение коэффициентов зависимостей $Y = f(c)$ или $Y = f(\ln c)$ линейным МНК на самом деле вряд ли имеет какие-либо преимущества перед проведением прямой линии «на глазок». Дело в том, что в методе наименьших квадратов погрешности в коэффициентах условных уравнений (в нашем случае c или $\ln c$) должны быть пренебрежимо малыми, а отклики — равноточными. И если первое условие выполняется хотя бы приближенно, то условие равноточности откликов заведомо не соблюдается. А, значит, из-за нарушения предпосылок МНК оптимальные статистические свойства находимых оценок параметров аппроксимирующих функций не гарантированы.

При широком распространении разнообразных компьютерных пакетов обработки данных предпочитают исследовать первичные зависимости $P^{\text{эмп}}$ от c , отказываясь от их линейаризации. В связи с этим, а также из-за ограниченности набора испытываем-

мых функций распределения, графические методы утратили актуальность, хотя все еще сохранили значение как средство визуализации данных.

Упрощенный способ построения аппроксимирующих функций $P(c)$ был предложен недавно по итогам выполнения проекта MEQUALAN [21, 28]. Принимали, что в области ненадежности зависимость $P_i^{\text{ЭМП}}$ является линейной функцией c_i , а всю кривую эффективности можно представить ломаной линией (рис. 3.6). Авторы [21, 28] главным достоинством этого способа считают возможность проводить испытания для малого числа различных концентраций аналита c_i . Однако это достоинство метода еще не дает оснований рекомендовать его для практического применения. Действительно, описание в интервале ненадежности зависимости $P_i^{\text{ЭМП}}$ от c_i линейной функцией лишает всякой достоверности суждения о поведении функции $P(c)$ в окрестности концов интервала ненадежности. Между тем, именно окрестности «плечей» (области, где вероятности положительного отклика близки к 0 и 1) наиболее важны для определения формы кривой эффективности и нахождения границ интервала ненадежности [163].

Способом оценивания подгоночных параметров, наиболее строгим с точки зрения математической статистики, является метод максимума правдоподобия. Положительный («ДА, аналит обнаружен») и отрицательный («НЕТ, аналит не обнаружен») результаты анализа — это исходы случайного эксперимента, в котором в отдельном испытании вероятность «успеха» равна P , а «неудачи» — $(1 - P)$ (схема Бернулли). Если допустить, что единственной переменной, определяющей вероятность успеха (отклика «ДА») является концентрация аналита c , то число положительных результатов n_i в N_i испытаниях — случайная величина, подчиняющаяся закону биномиального распределения:

$$P(n_i, N_i) = \frac{N_i!}{n_i! (N_i - n_i)!} P(c_i)^{n_i} [1 - P(c_i)]^{(N_i - n_i)}. \quad (3.15)$$

Тогда функция правдоподобия — вероятность получения совокупности результатов для изученных уровней концентрации

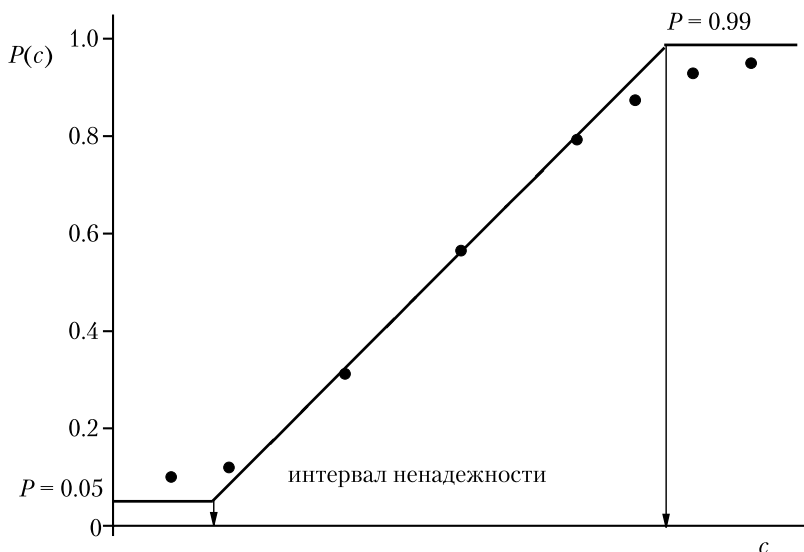


Рис. 3.6. Представление кривой эффективности ломаной линией согласно рекомендациям [21, 28]

аналита — это произведение величин (3.15) для всех концентраций c_i :

$$L(|\theta\rangle, |n_i\rangle) = \prod_{i=1}^M P^{\text{ЭМП}}(n_i, N_i) = \prod_{i=1}^M \frac{N_i!}{n_i!(N_i - n_i)!} P^{\text{ЭМП}}(c_i)^{n_i} [1 - P^{\text{ЭМП}}(c_i)]^{(N_i - n_i)}, \quad (3.16)$$

где $|\theta\rangle$ — вектор параметров функции $P(c_i)$. Предпочитают от L

перейти к ее логарифму и отбросить слагаемое $\sum_{i=1}^M \ln \frac{N_i!}{n_i!(N_i - n_i)!}$,

не зависящее от искомых параметров. Тогда критериальная функция принимает вид

$$F = \sum_{i=1}^M \left\{ n_i \ln P^{\text{ЭМП}}(c_i) + (N_i - n_i) \ln (1 - P^{\text{ЭМП}}(c_i)) \right\}. \quad (3.17)$$

В методе максимума правдоподобия [181] $|\theta\rangle$ находят [177] как оценки, обращающие функцию (3.17) в максимум. Оптимум ищут численными методами, итеративно уточняя начальные оценки параметров. Хорошими начальными приближениями при поиске максимума F считают оценки, полученные с использованием графических методов [177].

О качестве аппроксимации $P^{\text{эмп}}$ функцией $P(c_i)$ можно судить по близости вероятности L (3.16) к 1. Можно использовать и критерий χ^2 [177, 182–184], сравнивая значение статистики

$$\chi_{\text{экср}}^2 = \sum_{i=1}^M \frac{\{n_i - N_i P(c_i, \theta)\}^2}{N_i P(c_i, \theta) \cdot \{1 - P(c_i, \theta)\}} \quad (3.18)$$

с критическим значением для числа степеней свободы $f = M - z$, где z — число подгоночных параметров аппроксимирующей функции. Применение критерия χ^2 , теоретически связанного с нормальным распределением вероятностей, является приближенным, справедливым асимптотически — при большом числе испытаний.

В качестве примера рассмотрим подбор кривых эффективности, описывающих вероятность обнаружения ионов калия по реакции с кроконатом натрия $\text{Na}_2\text{C}_5\text{O}_5$ [177]. Методика анализа предусматривала, что 0.01 мл испытуемого раствора и 0.01 мл 0.03 моль·л⁻¹ раствора кроконата натрия смешивали в фарфоровой чашке и упаривали досуха. Сравнивали окраску сухого остатка и окраску бледно-желтой холостой пробы. В присутствии ионов калия остаток окрашен в красный цвет вследствие образования смешанных кристаллов KNaC_5O_5 . Результаты испытаний приведены в табл. 3.3.

Зависимость $P^{\text{эмп}}$ от c аппроксимировали функциями нормального, логарифмического нормального и экспоненциального распределений. Максимум критерия F (3.17) искали методом Ньютона, начальные приближения подгоночных параметров находили по результатам применения графических методов. Результаты вычислений приведены в табл. 3.4.

Судя по значениям F , различие между тремя функциями распределения очень небольшое, все они адекватны и по критерию χ^2 ($\chi_{\text{эксп}}^2 < \chi_{f=8, \alpha=5\%}^2 = 15.5$), хотя аппроксимация $P_i^{\text{эмп}}$ функцией экспоненциального распределения выглядит наиболее точной. При использовании этой функции распределения интервал ненадежности ограничен снизу концентрацией ионов калия $14 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$, а сверху — $25 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$.

Таблица 3.3 Частоты обнаружения ионов калия по реакции с кроконатом натрия

$c_i, \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$	N_i	n_i	$P_i^{\text{эмп}}$
13.5	40	1	0.025
14.0	40	3	0.075
14.5	20	8	0.400
15.0	20	9	0.450
15.5	20	11	0.550
16.0	81	44	0.543
16.5	20	12	0.600
17.0	80	55	0.688
17.5	40	32	0.800
18.0	81	69	0.852

Таблица 3.4. Результаты применения максимума правдоподобия для выбора функции, представляющей кривую эффективности обнаружения ионов калия по реакции с кроконатом натрия

Величина	Функция распределения		
	нормального	логнормального	экспоненциального
θ_1	15.9 (0.1)	2.763 (0.008)	13.45 (0.05)
θ_2	1.87 (0.06)	0.620 (0.003)	2.84 (0.05)
F	236	236	233
$\chi_{\text{эксп}}^2$	12.0	10.7	6.7

θ_1, θ_2 — это \bar{c} и σ^2 в случае нормального; $\ln \bar{c}$ и σ^2 в случае логнормального; a и b в случае экспоненциального распределений.

Вычисление параметров характеристических кривых методом максимума правдоподобия не получило широкого распространения, возможно, вследствие довольно значительных вычислительных трудностей.

Если ориентироваться на выполнение расчетов с помощью многочисленных компьютерных пакетов, реализующих численную минимизацию, то естественно обратиться к нелинейному взвешенному методу наименьших квадратов. При его использовании подгоночные параметры $|\theta\rangle$ находят как оценки, обращающие в минимум функцию

$$\chi_{\text{эксп}}^2 = \sum_{i=1}^M \xi_i^2, \quad (3.19)$$

где ξ_i — взвешенные невязки,

$$\xi_i = w_i^{1/2} (P_i^{\text{эмп}} - \hat{P}_i), \quad (3.20)$$

\hat{P}_i — рассчитанное значение частоты для концентрации c_i ,
 w_i — статистический вес,

$$w_i = 1 / s^2(P_i^{\text{эмп}}), \quad (3.21)$$

$s^2(P_i^{\text{эмп}})$ — дисперсия $P_i^{\text{эмп}}$.

МНК-оценки $|\theta\rangle$ являются оценками максимального правдоподобия и обладают свойствами состоятельности, несмещенности и эффективности, если взвешенные невязки ξ_i — нормально распределенные случайные величины с нулевым средним и одинаковой дисперсией [181]. Даже при «разумном» назначении весов и адекватной аппроксимации $P_i^{\text{эмп}}$ выбранной функцией $P(c)$, это условие выполняется лишь асимптотически, с ростом числа испытаний [182, 183]. Таким образом, оценки нелинейного МНК следует признать эвристическими.

Качество аппроксимации $P_i^{\text{эмп}}$ функцией $P(c)$ можно оценивать с помощью различных критериев. Применяя критерий χ^2 ,

аппроксимацию признают адекватной, если выполняется неравенство

$$\chi_{\text{экср}}^2 < \chi_{f, \alpha\%}^2, \quad (3.22)$$

где $\chi_{f, \alpha\%}^2$ — 100- α -процентная точка распределения χ^2 при заданном уровне значимости α (обычно 0.10, 0.05 или 0.01) для $f = M - z$ степеней свободы. Надо учитывать, что при нарушении сформулированной выше гипотезы о свойствах взвешенных невязок ξ_i критерий χ^2 теоретически не обоснован. Заметим также, что соотношение (3.22) является точным только для моделей, линейных по параметрам, а применяя его в иных случаях, уровень значимости α считают заданным лишь приближенно.

Для оценки адекватности аппроксимации используют также λ -критерий Колмогорова-Смирнова [185]. При этом находят значение статистики

$$\lambda = \max_i \left| P_i^{\text{эмр}} - \hat{P}_i \right| \cdot \sqrt{M} \quad (3.23)$$

и признают аппроксимацию адекватной, если вероятность наблюдаемого значения λ превышает пороговое значение 5%. Впрочем, из-за не слишком высокой мощности критерий Колмогорова-Смирнова редко отбрасывает гипотезу о согласии зависимости $P^{\text{эмр}}$ от s с выбранной функцией распределения.

Критериями адекватности аппроксимации могут выступать также среднее выборочное значение взвешенных невязок $\bar{\xi}$ и среднее выборочное значение модулей взвешенных невязок $|\bar{\xi}|$. Если распределение ξ_i подчиняется закону нормального распределения с нулевым средним и единичной дисперсией, математические ожидания составляют [186]:

$$E(\bar{\xi}) = 0, \quad E(|\bar{\xi}|) = \sqrt{2/\pi} \approx 0.8. \quad (3.24)$$

Для адекватной модели выборочные оценки $\bar{\xi}$ и $|\bar{\xi}|$ не должны слишком сильно отличаться от математических ожиданий (3.24) даже при нарушении гипотезы о распределении ξ_i .

С учетом вышесказанного, особое значение приобретает вопрос о назначении статистических весов w_i . Различия в выборе модели погрешностей $P_i^{\text{эмп}}$ приводят к отличиям в оценках w_i .

Наиболее обоснованной является модель, учитывающая, что частоты P_i , равно как и число «успехов» n_i в N_i испытаниях, — случайные биномиально распределенные величины. Тогда дисперсии частот обнаружения

$$s^2(P_i) = \frac{P_i(1-P_i)}{N_i}, \quad (3.25)$$

что приводит к формуле для весов

$$w_i = \frac{N_i}{P_i^{\text{эмп}}(1-P_i^{\text{эмп}})}. \quad (3.26)$$

Другой способ назначения весов предполагает, что испытания по определению эмпирической частоты обнаружения аналита при его концентрации c_i повторяют J раз, проводя в каждой серии $(N_i)_j$ испытаний. Общее число испытаний для концентрации c_i

$$N_i^{\text{общ}} = \sum_{j=1}^J (N_i)_j. \quad (3.27)$$

Зная число «успехов» $(n_i)_j$ в каждой из серий испытаний, вычисляют среднее значение частоты обнаружения:

$$\overline{P_i^{\text{эмп}}} = \frac{1}{N_i^{\text{общ}}} \sum_{j=1}^J (n_i)_j. \quad (3.28)$$

Можно найти также частоты обнаружения в каждой из J серий,

$$(P_i^{\text{эмп}})_j = \frac{(n_i)_j}{(N_i)_j}, \quad (3.29)$$

и, считая их равноточными, оценить стандартное отклонение $\overline{P_i^{\text{эмп}}}$ как

$$s(\overline{P_i^{\text{эмп}}}) = \left(\frac{1}{J \cdot (J-1)} \sum_{j=1}^J \left[(P_i^{\text{эмп}})_j - \overline{P_i^{\text{эмп}}} \right]^2 \right)^{1/2}. \quad (3.30)$$

Как показали выполненные расчеты, весовые множители $w_i^{1/2}$, оцененные по различным моделям погрешностей, могут отличаться в несколько раз. В этой связи важно выяснить, насколько существенно значения параметров $|\theta\rangle$ зависят от способа назначения весов.

Еще один важный вопрос — робастность МНК-оценок параметров характеристических кривых. Из теории робастного оценивания [187–190] известно, что МНК-оценки $|\theta\rangle$ являются асимптотически состоятельными, несмещенными и эффективными при нормальном распределении ξ_i [182, 183] или в случае, если распределение ξ_i имеет хвосты более короткие, чем нормальное [187]. В случае более длинных хвостов оценки $|\theta\rangle$ теряют свои оптимальные статистические свойства и сильно зависят от наличия в данных «грубых промахов» [190]. О длине хвостов распределения судят по коэффициенту эксцесса распределения (γ_2):

$$\gamma_2 = \tilde{\mu}_4 / (\tilde{\mu}_2)^2 - 3, \quad (3.31)$$

где $\tilde{\mu}_2$ и $\tilde{\mu}_4$ — второй и четвертый центральный моменты распределения остатков ξ_i соответственно. Для нормального распределения $\gamma_2 = 0$, для распределений с более длинными хвостами $\gamma_2 > 0$.

Для случайных величин P_i , подчиняющихся биномиальному распределению, коэффициент эксцесса

$$\gamma_2 = -\frac{6}{N_i} + \frac{1}{N_i P_i (1 - P_i)}. \quad (3.32)$$

Легко видеть (табл. 3.5), что он положителен при малых и больших P_i .

Взвешенные невязки ξ_i — случайные величины, довольно сложным образом связанные с P_i . Вопрос о влиянии способа на-

значения весов w_i на функцию распределения ξ_i требует отдельного исследования, но очевидно, что нормальное распределение ξ_i или распределение с более короткими хвостами не гарантировано. Значит, не гарантированы и оптимальные свойства оценок нелинейного МНК. Поскольку на практике чаще всего находят именно эти оценки, необходимо выяснить, насколько близки МНК-оценки к робастным, малочувствительным к наличию в данных «грубых промахов».

Таблица 3.5. Значения коэффициентов эксцесса для биномиально распределенных величин

P_i	N_i			
	10	20	50	100
0.05	1.51	0.75	0.30	0.15
0.10	0.51	0.26	0.10	0.05
0.25	-0.07	-0.03	-0.01	-0.01
0.50	-0.20	-0.10	-0.04	-0.02
0.75	-0.07	-0.03	-0.01	-0.01
0.90	0.51	0.26	0.10	0.05
0.95	1.51	0.75	0.30	0.15

Если робастные оценки параметров $|\theta\rangle$ и находимые на их основе метрологические характеристики методик обнаружения окажутся существенно отличными от оценок, полученных на основе использования МНК, то применения в практике обработки экспериментальных данных довольно трудоемких процедур робастного оценивания избежать нельзя.

Таким образом, вырабатывая рекомендации по подбору характеристических кривых, нужно решить следующие проблемы:

- ограничить несколькими наименованиями перечень функций, используемых для аппроксимации эмпирических зависимостей $P_i^{\text{эмп}}$ от c ;
- установить, насколько варьирование модели погрешностей $P_i^{\text{эмп}}$ (и, следовательно, способа задания статистических

- весов w_i) сказывается на значениях подгоночных параметров функций, описывающих кривые эффективности, и методологических характеристиках методик обнаружения с бинарным откликом;
- на основе сопоставления МНК-оценок подгоночных параметров с робастными аналогами выяснить, допустимо ли использование МНК-оценок, или же от них следует отказаться.

3.3. Подбор кривых «доза-эффект» в пробит-анализе

В совершенно другой предметной области возникла задача, математические аспекты которой, как это часто бывает, оказались поразительно близкими к вычислительным проблемам тестирования с бинарным откликом. Речь идет об описании кривых «доза-эффект» («dose-response curves»), отражающим биологический ответ системы на дозу (концентрацию) или/и длительность некоторого воздействия (радиации, токсиканта и т. п.). Частным случаем кривых «доза-эффект» являются «кривые выживания». Они описывают зависимость доли погибших объектов (организмов, клеток и т. д.) от дозы яда или радиации.

Как и кривые эффективности, многие кривые «доза-эффект» возрастают от 0 до 1. Принципиально важно, что в группе изучаемых организмов частоту отклика «эффект наблюдается» описывает именно биномиальное распределение.

Для математического описания зависимостей «доза-эффект» был разработан пробит-анализ¹ [181, 191–196] (другое название — дозаторный анализ кривых воздействия).

Пробит-анализ получил широкое признание и был внедрен в практику фармакологических и токсикологических лабораторий, а с тех пор, как соответствующие математические методы были реализованы в пакетах Statistica и SPSS, используется для экономического анализа и прогнозирования, в социологических

1 «Probites» — сокращенное «probability units», откуда и название «пробит-анализ».

исследованиях и других областях [174]. Исследуют модели, откликом в которых служит бинарная переменная (владеет ли представитель выборки компьютером; согласен ли претендент занять вакансию в организации; будет ли избиратель голосовать за данного кандидата и т. п.¹).

Вероятность проявления эффекта (P) может зависеть от значений многих объясняющих переменных. Так, восприимчивость организмов к действию токсиканта зависит как от его дозы, так и от времени воздействия. Поэтому часто рассматривают зависимость P одновременно и от концентрации (C), и от времени (t). В пробит-анализе используют функцию нормального распределения:

$$P = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^G \exp\left(-\frac{u^2}{2}\right) du, \quad (3.33)$$

где G — некоторая функция объясняющих переменных, например, $G = B_0 + B_1 \ln C$, $G = B_0 + B_2 \ln t$, $G = B_0 + B_2 \ln(C^n t)$, $n = B_1 / B_2$, $G = B_0 + B_1 \ln C + B_2 \ln t$, B_0 , B_1 , B_2 — подгоночные параметры. Для определения подгоночных параметров используют разнообразные методы — как подобные описанным в разд. 3.2 (основанные на линеаризации исходных зависимостей), так и метод максимума правдоподобия. Функция правдоподобия L задается формулой (3.16), коэффициенты B_0 , B_1 , B_2 находят численными методами, уточняя начальные оценки, а адекватность аппроксимации проверяют по критерию χ^2 .

Вначале зависимости «доза-эффект» описывали функцией нормального распределения, а затем стали привлекать также функции логнормального, экспоненциального, экстремального

1 Забавный пример задачи, решаемой методом пробит-анализа, приведен в руководстве к пакету SPSS [197]: «Шеф секретной службы некоторой вымышленной страны пожелал узнать, сколько денег он должен предложить гражданам соседнего государства, чтобы они доставляли ему некоторую тайную информацию. Для этой цели через своего посредника он предлагает первой группе 1000 долларов и отмечает, сколько человек соглашаются на его предложение вести шпионскую деятельность. Второй группе он предлагает 2000 долларов и вновь отмечает себе количество попаданий в цель. Он продолжает предлагать деньги и дальше, действуя таким пошаговым образом и доходит до суммы 10000 долларов. ... Шеф секретной службы желает выяснить, сколько он должен предложить денег, чтобы достичь желаемой доли положительных ответов».

значения первого рода (Вейбулла) и логистического¹ распределений [191–195]

$$P(x) = \frac{1}{1 + \exp\left(-\frac{x-k}{t}\right)}, \quad (3.34)$$

где k и t — параметры. Помимо пакетов общего назначения, для соответствующих вычислений разработаны и специальные компьютерные программы [192, 198, 199].

Оказалось, что часто при описании эмпирических зависимостей «доза-эффект» большой разницы между испытанными функциями распределения не наблюдается [200]. Вместе с тем, рассмотрев факторы, не связанные с качеством аппроксимации частотных зависимостей, авторы [201] пришли к заключению о целесообразности использования функции логистического распределения. Свою точку зрения авторы [201] аргументировали, в частности, тем, что «большинство дозовых зависимостей для экосистемных параметров при техногенном загрязнении имеет вид S -образной кривой и, следовательно, может хорошо аппроксимироваться логистическим уравнением (это утверждение принимается как эмпирическое обобщение); логистическое уравнение отражает современные представления о существовании пределов устойчивости экосистем к воздействиям и о наличии порога в дозовой зависимости; ... кривая логистической функции имеет несколько критических точек, которым может быть дана содержательная интерпретация».

Можно полагать, что результаты, полученные при подборе кривых «доза-эффект», окажутся бесполезными для понимания особенностей вычислительных процедур в бинарном тестировании.

1 Если для описания зависимостей «доза-эффект» используется функция логистического распределения, применяют термин «логит-анализ».

3.4. Подбор кривых эффективности на основе системы функций плотности Пирсона

Применение вычислительных процедур, описанных в разделах 3.2 и 3.3, требует предварительного выбора вида функции, аппроксимирующей зависимость частоты обнаружения от концентрации аналита. Легко представить ситуацию, когда функцию, способную адекватно описать зависимость $P_i^{\text{эмп}}(c)$, не включили в априорно сформированный набор аппроксимирующих функций. Привлекательными представляются подходы, свободные от этого недостатка.

Большинство непрерывных распределений можно достаточно полно охарактеризовать первыми четырьмя моментами, если они конечны. В методе моментов гистограмму наблюдений аппроксимируют кривой распределения, имеющего те же среднее (первый начальный момент), дисперсию, третий и четвертый центральные моменты, что и наблюдаемое распределение. Один из подходов, реализующих метод моментов, был предложен в 1894 г. Карлом Пирсоном; его подробное описание можно найти в старых руководствах по статистике (см., например, [202]), но и сегодня метод отнюдь не забыт. Кривые Пирсона различных типов используют для описания особенностей кристаллических решеток в кристаллографии, аппроксимации кривых распределения полимеров по молекулярным массам, полос поглощения в спектроскопии, в демографии и для решения других прикладных статистических задач [203–209].

Суть подхода состоит в том, что по результатам наблюдений находят выборочные оценки четырех моментов распределения, определяют тип подходящей кривой Пирсона и по оценкам моментов вычисляют неизвестные параметры искомой кривой.

Решение задачи основано на исследовании дифференциального уравнения Пирсона

$$\frac{d\tilde{y}}{\tilde{y}} = \frac{-\tilde{x}d\tilde{x}}{a_0\tilde{x}^2 + a_1\tilde{x} + a_2}. \quad (3.35)$$

При $\tilde{x} = 0$ дифференциал $d\tilde{y}$ обращается в нуль, и, следовательно, экстремум кривой (мода) соответствует началу координат. При произвольном смещении вводится преобразование $\tilde{x} = x - M$, $\tilde{y} = y$, где M — мода новой системы координат, а уравнение (3.35) принимает вид

$$\frac{dy}{y} = \frac{-(x - M)dx}{b_0x^2 + b_1x + b_2}, \quad (3.36)$$

или, в более удобной форме,

$$\frac{1}{y} \frac{dy}{dx} = - \frac{x - M}{b_0x^2 + b_1x + b_2}, \quad (3.37)$$

где $b_0 = a_0$, $b_1 = a_1 - 2a_0M$, $b_2 = a_2 - a_1M + a_0M^2$.

Задача состоит в том, чтобы определить значения коэффициентов b_0 , b_1 и b_2 через значения моментов кривой для выбранной системы координат.

Обозначим абсциссы крайних точек кривой распределения a и b . Полагая, что в этих точках ординаты равны нулю, начальные моменты k -порядка вычисляются как

$$\mu'_k = \frac{\int_a^b x^k y dx}{\int_a^b y dx} \quad (3.38)$$

Обозначив $f(x) = b_0x^2 + b_1x + b_2$, уравнение (3.36) преобразуют к виду

$$f(x)dy + (x - M)ydx = 0. \quad (3.39)$$

Обе части выражения (3.39) умножают на x^k и интегрируют по x в пределах от a до b . Интегрирование приводит к системе из четырех уравнений с четырьмя неизвестными (к коэффициентам b_0 , b_1 и b_2 добавляется M), причем коэффициентами этих уравнений являются величины начальных моментов.

Вычисление неизвестных параметров упрощается, если начало координат сместить таким образом, что $\mu'_1 = 0$. Тогда начальные моменты второго и высших порядков совпадают с центральными.

Вводя обозначения $\beta_1 = \frac{\mu_3^2}{\mu_2^3}$, $\beta_2 = \frac{\mu_4}{\mu_2^2}$, $r = \frac{6(\beta_2 - \beta_1 - 1)}{3\beta_1 - 2\beta_2 + 6}$, получают окончательно:

$$b_0 = -\frac{1}{r-2}, \quad b_1 = \frac{(r+2)\mu_3}{2(r-2)\mu_2}, \quad (3.40)$$

$$b_2 = \frac{(r+1)\mu_2}{r-2}, \quad M = -b_1 = -\frac{(r+2)\mu_3}{2(r-2)\mu_2}. \quad (3.41)$$

Вычисленные значения b_0 , b_1 , b_2 и M вносят в выражение (3.36), интегрированием которого находят уравнение, задающее функцию распределения. При этом, в зависимости от значений корней уравнения (по сути, от значения дискриминанта D многочлена $f(x)$), возникают различные функции плотности распределения. Дискриминант D имеет вид:

$$D = b_1^2 - 4b_0b_2 = b_1^2 \left(1 - \frac{4b_0b_2}{b_1^2} \right) = b_1^2 \left(1 - \frac{1}{\kappa} \right), \quad (3.42)$$

где $\kappa = \frac{b_1^2}{4b_0b_2}$ — критерий Пирсона. Используя систему уравнений

(3.40), (3.41), выразим критерий Пирсона через значения моментов:

$$\kappa = -\frac{\beta_1(r+2)^2}{16(r+1)}. \quad (3.43)$$

Различные значения κ дают следующие выводы о корнях уравнения:

- если $\kappa < 0$, то $0 < b_1^2 < D$, уравнение (3.35) имеет вещественные корни различных знаков;
- если $0 < \kappa < 1$, то $D < 0$, уравнение (3.35) имеет комплексные корни;
- если $1 < \kappa < \infty$, то $0 < D < b_1^2$, уравнение (3.35) имеет вещественные корни одного знака.

Соответственно этим случаям различают главные типы кривых Пирсона — типы I, IV и VI. Кроме того, κ может принимать значения 0, 1, $\pm\infty$, что приводит к дополнительным (переходным) типам кривых. Вводя некоторые дополнительные условия, число переходных типов можно увеличить. Главные типы кривых Пирсона охарактеризованы в табл. 3.6.

Для подбора кривой Пирсона, описывающей результаты би-нарного тестирования, мы использовали алгоритм, включающий следующие шаги.

- I. Разбить интервал концентраций аналита на $M-1$ подынтервалов и вычислить набор

$$x_i = (c_{i+1} - c_i) / 2. \quad (3.44)$$

Таблица 3.6. Типы кривых Пирсона и их характеристики

Значение κ	Тип кривой	Свойства кривой
$\kappa < 0$	I (частный случай — бета-распределение I рода)	Область определения ограничена
$\kappa = 0, \beta_1 = 0, \beta_2 \neq 0$	II (частный случай — равномерное распределение)	Область определения ограничена, кривая симметрична
$\kappa = 0, \beta_1 = 0, \beta_2 = 3$	VII (частный случай — распределение Стьюдента)	Область определения неограничена, кривая симметрична
$0 < \kappa < 1$	IV	Область определения неограничена
$\kappa = 1$	V	Область определения неограничена
$1 < \kappa < \infty$	VI (частный случай — F -распределение)	Область определения неограничена
$\kappa = \infty$	III (частный случай — распределение χ^2)	Область определения неограничена

- II. Вычислить набор $p_i^* = P_{i+1}^{\text{ЭМП}} - P_i^{\text{ЭМП}}$, нормировочный мно-

$$\text{житель } l = \frac{1}{\sum_i p_i^*} \text{ и набор} \quad p_i = l p_i^*. \quad (3.45)$$

Набор $(x_i; p_i)$ соответствует дифференциальному виду кривой эффективности.

III. Вычислить выборочные оценки начальных

$$\mu'_k = \frac{1}{M-1} \sum_1^{M-1} x_i^k p_i \quad (3.46)$$

и центральных моментов

$$\mu_k = \frac{1}{M-1} \sum_1^{M-1} p_i \cdot (x_i - \mu'_1)^k. \quad (3.47)$$

IV. Вычислить β_1, β_2 и r .

V. Вычислить по формуле (3.43) значение критерия Пирсона κ .

Расчеты, проведенные для 27 методик обнаружения с бинарным откликом (см. гл. 4), показали, что на практике встречается лишь один тип кривых Пирсона — кривые типа I. Они соответствует следующему случаю: корни многочлена $f(x)$ (обозначим их d_1 и d_2) действительны, конечны и отличаются друг от друга. Левая часть уравнения (3.37) является производной функции $\ln y$ по x . Для кривых типа I уравнение (3.37) принимает вид [202]

$$\frac{d}{dx} \ln y = \frac{m_1}{d_1 + x} + \frac{m_2}{d_2 - x}, \quad (3.48)$$

где m_1 и m_2 — постоянные.

Таким образом, справедливо соотношение

$$\ln y = m_1 \ln(d_1 + x) + m_2 \ln(d_2 - x) + \text{const}, \quad (3.49)$$

или

$$y = y_0 (d_1 + x)^{m_1} (d_2 - x)^{m_2}, \quad (3.50)$$

где y_0 — нормировочный множитель.

При возвращении к исходной системе координат получают:

$$y = y_0 (d_1 - \mu'_1 + x)^{m_1} (d_2 + \mu'_1 - x)^{m_2}. \quad (3.51)$$

Вводя вспомогательные коэффициенты $z_1 = m_1 + 1$, $z_2 = m_2 + 1$,

$d = d_1 + d_2$, $d_1 = z_1 \frac{d}{r}$, $d_2 = z_2 \frac{d}{r}$, вычисляют величины

$$d^2 = 0.25 \mu_2 \left(\beta_1 (r+2)^2 + 16(r+1) \right), \quad (3.52)$$

$$s = \frac{4r^2(r+1)}{\beta_1(r+2)^2 + 16(r+1)}. \quad (3.53)$$

Из условий $z_1 + z_2 = r$, $z_1 \cdot z_2 = s$ следует тождество

$$z^2 - rz + s = 0. \quad (3.54)$$

Алгоритм, таким образом, продолжается следующими шагами.

VI. Вычислить величины d и s .

VII. Найти корни уравнения (3.54).

VIII. Найти величины d_1 , d_2 , z_1 и z_2 .

IX. С использованием итеративной процедуры численного интегрирования найти нормировочный множитель y_0 в уравнении (3.51).

X. Проинтегрировать полученное уравнение и получить набор оценок вероятности обнаружения компонента в интервале ненадежности (\hat{P}_i) .

XI. Оценить адекватность модели с использованием обычного набора критериев.

В качестве примера приведем результаты применения алгоритма для описания зависимости частоты обнаружения суммы ионов металлов от их концентрации по методике [70] (табл. 3.7). Набор $(x_i; p_i)$ приведен в табл. 3.8.

Получены такие выборочные оценки центральных моментов: $\mu_1 = 3.94 \cdot 10^{-3}$, $\mu_2 = 2.0 \cdot 10^{-5}$, $\mu_3 = 7.2 \cdot 10^{-7}$, $\mu_4 = 8.4 \cdot 10^{-7}$, значения вспомогательных величин: $\beta_1 = 0.070$, $\beta_2 = 2.19$, $r = 3.69$ и критерия Пирсона $k = -0.030$. Поскольку $k < 0$, набор данных $(x_i; p_i)$ следует описывать кривой Пирсона типа I.

Таблица 3.7. Зависимость частоты обнаружения суммы ионов металлов (ΣM) от их концентрации

№	$c(\Sigma M)_i$, мг·л ⁻¹	$P_i^{\text{эмп}}$
1	$3.7 \cdot 10^{-3}$	0.113
2	$3.8 \cdot 10^{-3}$	0.279
3	$3.9 \cdot 10^{-3}$	0.440
4	$4.0 \cdot 10^{-3}$	0.646
5	$4.1 \cdot 10^{-3}$	0.800
6	$4.2 \cdot 10^{-3}$	0.889
7	$4.3 \cdot 10^{-3}$	0.917

Таблица 3.8. Сопоставление $p_i^{\text{эмп}}$ с \widehat{p}_i

№	x_i	$p_i^{\text{эмп}}$	\widehat{p}_i
1	$3.75 \cdot 10^{-3}$	0.21	0.19
2	$3.85 \cdot 10^{-3}$	0.20	0.24
3	$3.95 \cdot 10^{-3}$	0.26	0.23
4	$4.05 \cdot 10^{-3}$	0.19	0.19
5	$4.15 \cdot 10^{-3}$	0.11	0.12
6	$4.25 \cdot 10^{-3}$	0.03	0.04

Уравнение дифференциальной кривой (3.51) имеет вид:

$$\widehat{p}_i = 1.81 \cdot 10^9 \left\{ \left(-3.7 \cdot 10^{-3} + x_i \right)^{0.53} \cdot \left(4.3 \cdot 10^{-3} - x_i \right)^{1.16} \right\} \quad . \quad (3.55)$$

В табл. 3.8. и на рис. 3.7 $p_i^{\text{эмп}}$ сопоставлены с оценками \widehat{p}_i , рассчитанными по уравнению (3.55).

Численно интегрируя зависимость $\widehat{p}(x)$, построили характеристическую кривую (рис. 3.8).

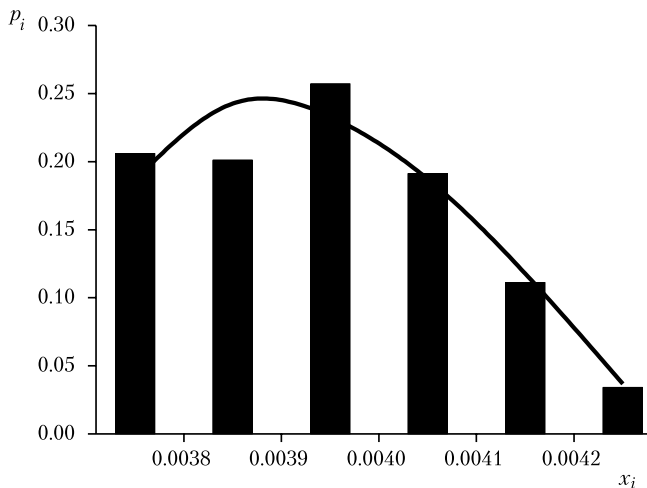


Рис. 3.7. Сопоставление экспериментальных и вычисленных значений p_i

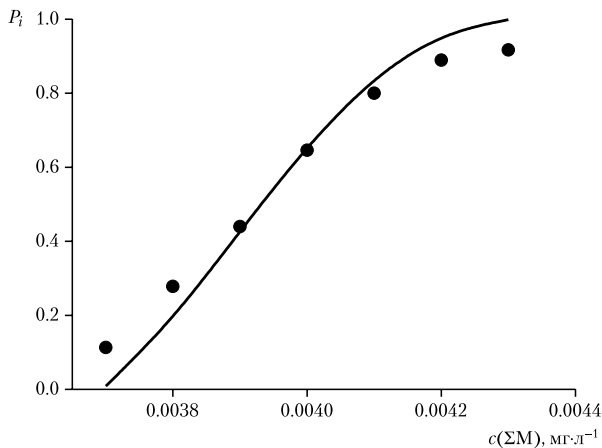


Рис. 3.8. Экспериментальные частоты обнаружения суммы ионов металлов (точки) и характеристическая кривая Пирсона типа I

ГЛАВА 4. ИСПЫТАНИЕ ПРОЦЕДУР ПОДБОРА КРИВЫХ ЭФФЕКТИВНОСТИ НА ЭМПИРИЧЕСКИХ ДАННЫХ

4.1. Сопоставление различных функций распределения

Для того чтобы из расширенного набора функций распределения выбрать лишь несколько функций, рекомендуемых для представления кривых эффективности, подвергли обработке большой набор зависимостей $P^{\text{эмп}}$ от c . Информация об испытанных функциях приведена в табл. 4.1; сведения о методиках обнаружения с бинарным откликом — в табл. 4.2. Хромогенные реакции проводились в растворах, на фильтровальной бумаге, реагентных индикаторных бумагах (РИБ), пенополиуретане (ППУ), поверхности геля метилкремниевой кислоты (МКК), в желатиновых пленках; исследовались реакции различного типа с участием широкого набора реагентов и аналитов. Подгоночные параметры функций распределения, аппроксимирующих зависимости $P^{\text{эмп}}$ от c , рассчитывали нелинейным МНК, минимизируя функционал (3.19), статистические веса назначали по формуле (3.25), а адекватность воспроизведения эмпирических данных оценивали по критериям χ^2 , λ -критерию Колмогорова-Смирнова, а также по значениям среднего взвешенных невязок $\bar{\xi}$ и среднего модулей взвешенных невязок $|\bar{\xi}|$. Заметим, что при высоких и низких значениях $P_i^{\text{эмп}}$ стандартные отклонения (3.25) могут оказаться заниженными по сравнению со стандартным отклонением генеральной совокупности [184]. Вследствие этого назначение статистических весов по формуле (3.25) может приводить к завышенным значениям статистики $\chi^2_{\text{эксп}}$ и излишне пессимистической оценке адекватности аппроксимации $P_i^{\text{эмп}}$.

Таблица 4.1. Функции распределения, испытанные при аппроксимации зависимости $P^{\text{эмп}}$ от c

Название распределения	Выражение для $P(c)$, область определения, подгоночные параметры
Экстремального значения первого рода (Вейбулла)	$P(c) = 1 - \exp\left(-\left(\frac{c-a}{b}\right)^k\right), a < c < \infty, a > 0, b > 0, k$
Лапласа	$P(c) = \frac{1}{2k} \int_{-\infty}^c \exp\left(-\left \frac{\bar{c}-x}{k}\right \right) dx, -\infty < c < \infty, \bar{c} > 0, k$
Логистическое	$P(c) = \frac{1}{1 + \exp\left(-\frac{c-k}{t}\right)}, k < c < \infty, k > 0, t > 0$
Логнормальное	$P(c) = \frac{1}{s\sqrt{2\pi}} \int_0^c \exp\left(-\frac{1}{2}\left(\frac{\ln(x/\bar{c})}{s}\right)^2\right) dx, 0 < c < \infty, \bar{c} > 0, s$
Нормальное	$P(c) = \frac{1}{s\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^c \exp\left(-\frac{1}{2}\left(\frac{\bar{c}-x}{s}\right)^2\right) dx, -\infty < c < \infty, \bar{c} > 0, s$
Пуассона *	$P(Q) = \sum_{j=0}^Q \frac{(\bar{c})^j \exp(-\bar{c})}{j!}, Q \geq 0, \bar{c} > 0$
Экспоненциальное	$P(c) = 1 - \exp\left(-\frac{c-a}{b}\right), a < c < \infty, a > 0, b > 0$

*

Поскольку распределение Пуассона описывает распределение дискретных случайных величин, интервал ненадежности Δc разбивали на M подынтервалов равной длины и аппроксимировали функцией $P(i)$ частоты $P_i^{\text{эмп}}, i = 1, 2, \dots, M$.

Таблица 4.2. Характеристики исходных данных

Но тест- сис- темы	Аналит / реагент	Носитель	Ссылка	Табл. с данны- ми о зави- симости $r_{эмп}$ от c
1	2	3	4	5
1	ДХА	Al_2O_3	[180], разд. 3.2	3.1
2	ΣM / РИБ ⁽¹⁾	бумага	[70], разд. 5.1	3.7
3	ΣM / РИБ ⁽²⁾		[68], разд. 5.1	4.3
4	Fe^{2+} / РИБ		[210], разд. 5.1	4.4
5	NO_2^- / РИБ		[210], разд. 5.1	4.5
6	$Ph_4B^- / C_{22}H_{29}N_2Cl^{(3)}$		[211], разд. 5.5	4.6
7	Cl_2 / тиокетон Михлера		[79]	4.7
8	Fe^{2+} , Fe^{3+} / фенилфлуорон		[80]	4.8
9	Co^{3+} / 2-нитрозо-1-нафтол		[76]	4.9
10	ΣM / ПАР	желатиновая пленка	[210], разд. 5.4	4.10
11	Co^{2+} / нитрозо-R-соль		[210], разд. 5.4	4.11
12	ΣM / ПАР	МКК	[210], разд. 5.3	4.12
13	Co^{2+} / 2-нитрозо-1-нафтол	ППУ	[210], разд. 5.2	4.13
14	Co^{2+} / SCN^-		[210], разд. 5.2	4.14
15	NO_2^-		[210], разд. 5.2	4.15
16	ΣM / ПАР ⁽⁴⁾		[210], разд. 5.2	4.16
17	ΣM / ПАР ⁽⁵⁾		[210], разд. 5.2	4.17
18	Ni^{2+} / $C_2H_4N_2S_2^{(6)}$	раствор	[67]	4.18
19	Co^{2+} / 2-нитрозо-1-нафтол		[211]	4.19
20	ΣM / ПАР		[210]	4.20
21	Fe^{3+} / KSCN		[1]	4.21
22	Fe^{2+} / $C_8H_{12}O_2^{(7)}$		[175]	4.22
23	Na^+ / $K_2C_5O_5$		[177]	4.23
24	K^+ / $Na_2C_5O_5$		[177], разд. 3.2	3.3
25	Li^+ / $K_2C_5O_5$		[65]	4.24

Продолжение табл. 4.2

1	2	3	4	5
26	ΣМ / КО	ксерогель	[122], разд. 5.6	4.25
27	Cu ²⁺ / КЦ		[122], разд. 5.6	4.26

ДХА — дихлоранилин,
 ΣМ — сумма ионов металлов,
 ПАР — 4-(2-пиридилазо)резорцин,
 КО — ксиленоловый оранжевый,
 КЦ — кальцеин.

(1) режим «с концентрированием»,
 (2) режим «без концентрирования»,
 (3) краситель катионный розовый 2С,
 (4) комплексы сорбируются из раствора,
 (5) ПАР закреплен на таблетках ППУ,
 (6) рубеоноводородная кислота,
 (7) димедон.

Таблица 4.3. Экспериментальные
данные для тест-
системы No 3

$c, \text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$	n_i	N_i	$P_i^{\text{эмп}}$
2.00	30	316	0.095
2.25	82	300	0.273
2.50	163	316	0.516
2.75	205	300	0.683
3.00	259	300	0.863
3.25	271	300	0.903
3.50	308	316	0.975
3.75	296	300	0.987

Таблица 4.4. Экспериментальные
данные для тест-
системы No 4

$c, \text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$	n_i	N_i	$P_i^{\text{эмп}}$
0.0056	26	100	0.260
0.0084	34	100	0.340
0.0112	49	100	0.490
0.0140	53	100	0.530
0.0168	60	100	0.600
0.0196	65	100	0.650
0.0223	74	100	0.740
0.0251	81	100	0.810
0.0279	85	100	0.850

Таблица 4.5. Экспериментальные данные для тест-системы No 5

$c, \text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$	n_i	N_i	$P_i^{\text{эмп}}$
0.05	22	152	0.146
0.10	29	152	0.191
0.15	46	152	0.301
0.20	62	152	0.408
0.25	85	152	0.559
0.30	100	152	0.655
0.35	118	152	0.779
0.40	129	152	0.846
0.45	138	152	0.908
0.50	146	152	0.959

Таблица 4.6. Экспериментальные данные для тест-системы No 6

$c, \text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$	n_i	N_i	$P_i^{\text{эмп}}$
2.90	2	98	0.020
3.05	1	42	0.024
3.20	5	88	0.057
3.70	8	99	0.081
4.10	21	98	0.214
4.80	15	42	0.357
6.40	57	75	0.760
8.0	41	42	0.976

Таблица 4.7. Экспериментальные данные для тест-системы No 7

$c, \text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$	n_i	N_i	$P_i^{\text{эмп}}$
0.03	7	66	0.106
0.04	15	66	0.227
0.05	38	66	0.576
0.06	43	66	0.652
0.07	55	66	0.833
0.08	63	66	0.955
0.10	65	66	0.985

Таблица 4.8. Экспериментальные данные для тест-системы No 8

$c, \text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$	n_i	N_i	$P_i^{\text{эмп}}$
0.05	2	69	0.029
0.10	15	69	0.217
0.15	39	69	0.565
0.20	63	69	0.913
0.25	68	69	0.985

Таблица 4.9. Экспериментальные
данные для тест-
системы No 9

$c, \text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$	n_i	N_i	$P_i^{\text{эмп}}$
0.10	3	40	0.075
0.20	8	40	0.200
0.30	25	40	0.625
0.40	37	40	0.925
0.50	39	40	0.975

Таблица 4.10. Экспериментальные
данные для тест-
системы No 10

$c, \text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$	n_i	N_i	$P_i^{\text{эмп}}$
0.15	21	100	0.210
0.16	28	100	0.280
0.17	42	100	0.420
0.18	52	100	0.520
0.19	66	100	0.660
0.20	76	100	0.760
0.21	78	100	0.780
0.22	86	100	0.860
0.23	94	100	0.940

Таблица 4.11. Экспериментальные
данные для тест-
системы No 11

$c, \text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$	n_i	N_i	$P_i^{\text{эмп}}$
0.103	15	100	0.150
0.118	26	100	0.260
0.133	36	100	0.360
0.147	46	100	0.460
0.162	60	100	0.600
0.177	67	100	0.670
0.192	77	100	0.770
0.206	86	100	0.860
0.221	94	100	0.940

Таблица 4.12. Экспериментальные
данные для тест-
системы No 12

$c, \text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$	n_i	N_i	$P_i^{\text{эмп}}$
0.30	30	100	0.300
0.32	44	100	0.440
0.34	52	100	0.520
0.36	62	100	0.620
0.38	74	100	0.740
0.40	87	100	0.870
0.42	94	100	0.940

Таблица 4.13. Экспериментальные
данные для тест-
системы No 13

$c, \text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$	n_i	N_i	$P_i^{\text{эмп}}$
0.477	21	100	0.210
0.483	42	100	0.420
0.489	43	100	0.430
0.495	39	100	0.390
0.501	67	100	0.670
0.507	65	100	0.650
0.513	69	100	0.690

Таблица 4.14. Экспериментальные
данные для тест-
системы No 14

$c, \text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$	n_i	N_i	$P_i^{\text{эмп}}$
0.020	18	100	0.180
0.022	39	100	0.390
0.024	46	100	0.460
0.026	62	100	0.620
0.028	90	100	0.900
0.030	93	100	0.930
0.032	99	100	0.990

Таблица 4.15. Экспериментальные
данные для тест-
системы No 15

$c, \text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$	n_i	N_i	$P_i^{\text{эмп}}$
0.01	11	291	0.037
0.02	45	293	0.154
0.03	90	308	0.292
0.04	140	292	0.479
0.05	200	299	0.669
0.06	264	292	0.904
0.07	284	312	0.910
0.08	255	263	0.970
0.09	289	302	0.957
0.10	305	318	0.959

Таблица 4.16. Экспериментальные
данные для тест-
системы No 16

$c, \text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$	n_i	N_i	$P_i^{\text{эмп}}$
0.0125	22	100	0.220
0.0150	35	100	0.350
0.0175	43	100	0.430
0.0200	54	100	0.540
0.0225	65	100	0.650
0.0250	79	100	0.790
0.0275	82	100	0.820
0.0300	86	100	0.860
0.0325	94	100	0.940

Таблица 4.17. Экспериментальные
данные для тест-
системы No 17

$c, \text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$	n_i	N_i	$P_i^{\text{эмп}}$
0.0030	22	100	0.220
0.0050	36	100	0.360
0.0070	48	100	0.480
0.0090	67	100	0.670
0.0110	78	100	0.780
0.0130	92	100	0.920

Таблица 4.18. Экспериментальные
данные для тест-
системы No 18

$c, \text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$	n_i	N_i	$P_i^{\text{эмп}}$
0.005	3	30	0.100
0.007	5	30	0.167
0.010	9	30	0.300
0.013	15	30	0.500
0.015	18	30	0.600
0.017	23	30	0.767
0.020	28	30	0.933
0.030	29	30	0.967

Таблица 4.19. Экспериментальные
данные для тест-
системы No 19

$c, \text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$	n_i	N_i	$P_i^{\text{эмп}}$
0.0884	8	100	0.080
0.118	24	100	0.240
0.147	53	100	0.530
0.177	71	100	0.710
0.206	73	100	0.730
0.236	90	100	0.900
0.265	96	100	0.960

Таблица 4.20. Экспериментальные
данные для тест-
системы No 20

$c, \text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$	n_i	N_i	$P_i^{\text{эмп}}$
0.032	24	100	0.240
0.036	34	100	0.340
0.040	47	100	0.470
0.044	65	100	0.650
0.048	74	100	0.740
0.052	87	100	0.870
0.056	94	100	0.940

Таблица 4.21. Экспериментальные
данные для тест-
системы No 21

$c, \text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$	n_i	N_i	$P_i^{\text{эмп}}$
0.022	3	24	0.125
0.032	2	25	0.080
0.045	5	27	0.185
0.054	10	25	0.400
0.065	6	27	0.222
0.086	8	25	0.320
0.108	19	27	0.703
0.162	22	26	0.846

Таблица 4.22. Экспериментальные
данные для тест-
системы No 22

$c, \text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$	n_i	N_i	$P_i^{\text{эмп}}$
4.40	7	50	0.140
4.50	11	50	0.220
4.60	20	50	0.400
4.70	29	50	0.580
4.80	44	50	0.880

Таблица 4.23. Экспериментальные
данные для тест-
системы No 23

$c, \text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$	n_i	N_i	$P_i^{\text{эмп}}$
18.0	75	212	0.354
19.0	157	346	0.454
20.0	221	346	0.639
21.0	232	346	0.671
22.0	255	346	0.737
23.0	288	346	0.832
24.0	280	346	0.809
25.0	309	346	0.893
26.0	129	134	0.963

Таблица 4.24. Экспериментальные
данные для тест-
системы No 25

$c, \text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$	n_i	N_i	$P_i^{\text{эмп}}$
55.0	32	228	0.140
57.5	68	228	0.298
60.0	108	228	0.474
62.5	147	226	0.650
65.0	188	228	0.825
67.5	200	221	0.905
70.0	127	134	0.948
72.5	65	68	0.956

Таблица 4.25. Экспериментальные данные для тест-системы No 26

$c, \text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$	n_i	N_i	$P_i^{\text{эмп}}$
0.60	20	100	0.200
0.80	67	100	0.670
0.90	87	100	0.870
1.00	93	100	0.930
1.20	99	100	0.990

Таблица 4.26. Экспериментальные данные для тест-системы No 27

$c, \text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$	n_i	N_i	$P_i^{\text{эмп}}$
0.05	12	100	0.120
0.10	20	100	0.200
0.20	47	100	0.470
0.40	67	100	0.670
0.60	87	100	0.870
0.80	93	100	0.930

Функция распределения Пуассона с одним подгоночным параметром оказалась в большинстве случаев неспособной адекватно описать зависимости $P_i^{\text{эмп}}(c)$ и была исключена из набора функций, перспективных для построения кривых эффективности.

Наиболее часто наилучшее воспроизведение $P_i^{\text{эмп}}$ достигалось при выборе в качестве аппроксимирующей функции распределения экстремального значения первого рода (Вейбулла). В то же время, для ряда систем подгоночные параметры не удавалось определить с приемлемой точностью (характерный пример приведен в табл. 4.27) из-за их высокой коррелированности, что указывает на избыточность модели с тремя подгоночными параметрами. Вследствие этого функция распределения экстремального значения первого рода также была исключена из перечня.

Для большинства изученных систем удовлетворительное качество описания зависимостей $P_i^{\text{эмп}}(c)$ достигнуто с использованием, помимо функции распределения экстремального значения первого рода, функций логистического и нормального распределений. Поскольку свойства последних очень похожи, а определение подгоночных параметров функции логистического распределения проще, мы предлагаем при построении кривых эффективности испытывать лишь эту функцию.

Таблица 4.27. Значения статистики χ^2 , ширина интервалов ненадежности и параметры аппроксимирующих функций для тест-системы No 20

Функция распределения	Вектор параметров	Ковариационная матрица	$\chi^2_{\text{эксп}}$
Экстремального значения первого рода (Вейбулла)	$\begin{pmatrix} a = 3.0 \cdot 10^{-3} \\ b = 4.7 \cdot 10^{-2} \\ k = 4.5 \end{pmatrix}$	$\begin{pmatrix} 0.34 & & \\ -0.34 & 0.35 & \\ 1.5 \cdot 10^{-3} & -1.0 \cdot 10^{-2} & 8.8 \cdot 10^{-3} \end{pmatrix}$	0.6
Лапласа	$\begin{pmatrix} a = 4.0 \cdot 10^{-2} \\ b = 9.5 \cdot 10^{-3} \end{pmatrix}$	$\begin{pmatrix} 9.7 \cdot 10^{-6} & \\ -2.9 \cdot 10^{-6} & 5.8 \cdot 10^{-6} \end{pmatrix}$	3.8
Логистического	$\begin{pmatrix} k = 4.0 \cdot 10^{-2} \\ t = 6.4 \cdot 10^{-3} \end{pmatrix}$	$\begin{pmatrix} 1.4 \cdot 10^{-3} & \\ -4.3 \cdot 10^{-4} & 1.4 \cdot 10^{-4} \end{pmatrix}$	1.6
Логнормального	$\begin{pmatrix} \bar{c} = 4.4 \cdot 10^{-2} \\ s = 0.25 \end{pmatrix}$	$\begin{pmatrix} 1.6 \cdot 10^{-4} & \\ -9.0 \cdot 10^{-5} & 2.6 \cdot 10^{-4} \end{pmatrix}$	3.8
Нормального	$\begin{pmatrix} \bar{c} = 4.0 \cdot 10^{-2} \\ s = 1.1 \cdot 10^{-2} \end{pmatrix}$	$\begin{pmatrix} 7.6 \cdot 10^{-4} & \\ -3.6 \cdot 10^{-4} & 1.4 \cdot 10^{-3} \end{pmatrix}$	1.0
Пуассона	$\bar{c} = 4.1 \cdot 10^{-2}$	$1.0 \cdot 10^{-3}$	40
Экспоненциального	$\begin{pmatrix} a = 3.0 \cdot 10^{-2} \\ b = 1.2 \cdot 10^{-2} \end{pmatrix}$	$\begin{pmatrix} 1.3 \cdot 10^{-2} & \\ -1.2 \cdot 10^{-2} & 2.1 \cdot 10^{-2} \end{pmatrix}$	16

5%-ные точки распределения χ^2 : $\chi^2_{f=4}=9.5$, $\chi^2_{f=5}=11.1$, $\chi^2_{f=6}=12.6$ [186].

К полезным заключениям привел анализ находимых интервалов ненадежности. Показателен пример обработки данных о частотах обнаружения ионов Fe^{2+} с помощью реагентной индикаторной бумаги (тест-система No 4, табл. 4.4, 4.28). Для большинства испытанных функций распределения значения $c_{5\%}$ отрицательны, хотя при этом и достигалось адекватное воспроизведение $P_i^{\text{эмп}}$. Такие ситуации возникали, преимущественно, в тех случаях, когда эмпирические частоты $P_i^{\text{эмп}}$ были сосредоточены вне «плеч» кривых эффективности (рис. 4.1).

Таблица 4.28. Значения статистики χ^2 и интервалы ненадежности Δc для тест-системы No 4

Функция распределения	$\chi^2_{\text{экс}}$	$\Delta c, \text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$
Экстремального значения первого рода (Вейбулла)	1.6	$-2.7\cdot 10^{-3} - 5.1\cdot 10^{-2}$
Лапласа	2.9	$-1.5\cdot 10^{-3} - 5.6\cdot 10^{-2}$
Логистического	2.0	$-1.1\cdot 10^{-3} - 5.2\cdot 10^{-2}$
Логнормального	5.0	$2.7\cdot 10^{-3} - 8.6\cdot 10^{-2}$
Нормального	2.0	$-7.9\cdot 10^{-3} - 4.2\cdot 10^{-2}$
Пуассона	23	$1.7\cdot 10^{-3} - 3.0\cdot 10^{-2}$
Экспоненциального	3.2	$2.2\cdot 10^{-3} - 7.1\cdot 10^{-2}$

5%-ные точки распределения χ^2 : $\chi^2_{f=6}=12.6$, $\chi^2_{f=7}=14.1$, $\chi^2_{f=8}=15.5$ [186].

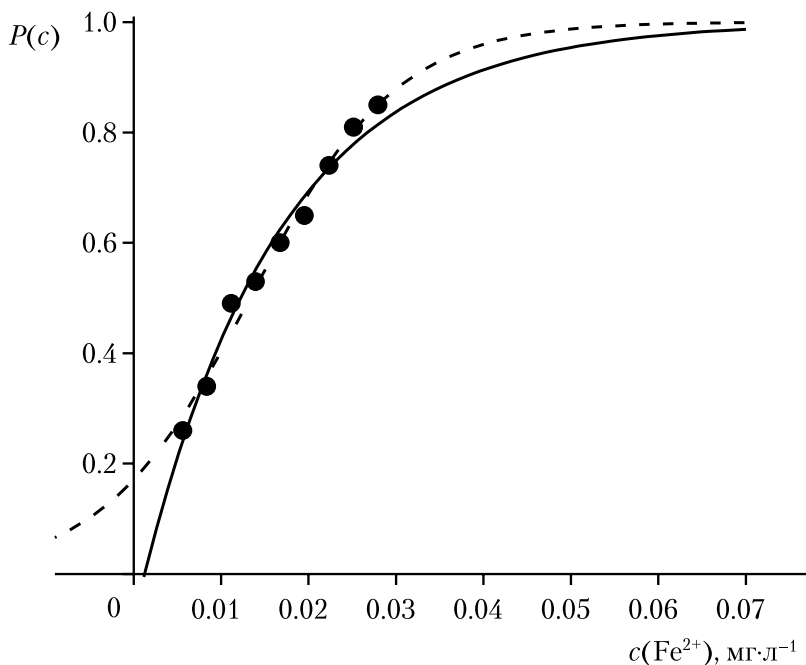


Рис. 4.1. Экспериментальные данные (•) для системы No 4 и их описание функциями логистического (пунктир) и экспоненциального (сплошная линия) распределений

Таблица 4.29. Выбранные аппроксимирующие функции, значения статистик χ^2 и интервалы ненадежности для тест-систем

№	Функция распределения	$\chi^2_{\text{эксп}} / f / \chi^2_{f, 0.05}$	$\Delta c, \text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$
1	экспоненциального	2.9 / 4 / 9.5	24 – 210
2	логистического	6.9 / 5 / 11.1	$3.5 \cdot 10^{-3} - 4.6 \cdot 10^{-3}$
3	логистического	9.4 / 6 / 12.6	1.8 – 3.8
4	экспоненциального	3.2 / 7 / 14.1	$2.2 \cdot 10^{-3} - 7.1 \cdot 10^{-2}$
5	экспоненциального	28.0 / 8 / 15.5	$8.6 \cdot 10^{-2} - 0.88$
6	логистического	5.1 / 6 / 12.6	3.2 – 8.8
7	логистического	4.7 / 5 / 11.1	$2.1 \cdot 10^{-2} - 9.6 \cdot 10^{-2}$
8	логистического	0.8 / 3 / 7.8	$6.1 \cdot 10^{-2} - 0.26$
9	логистического	0.9 / 3 / 7.8	0.10 – 0.53
10	логистического	2.5 / 7 / 14.1	0.12 – 0.27
11	логистического	4.6 / 7 / 14.1	$7.0 \cdot 10^{-2} - 0.27$
12	логистического	4.1 / 5 / 11.1	0.22 – 0.50
13	экспоненциального	12.8 / 5 / 11.1*	0.47 – 0.65
14	логистического	13.1 / 5 / 11.1*	$1.7 \cdot 10^{-2} - 3.4 \cdot 10^{-2}$
15	логистического	4.4 / 8 / 15.5	$1.1 \cdot 10^{-2} - 8.6 \cdot 10^{-2}$
16	логистического	2.2 / 7 / 14.1	$3.4 \cdot 10^{-3} - 4.3 \cdot 10^{-2}$
17	экспоненциального	13.8 / 4 / 9.5	$2.2 \cdot 10^{-3} - 2.9 \cdot 10^{-2}$
18	логистического	9.0 / 7 / 14.1	$4.2 \cdot 10^{-3} - 2.7 \cdot 10^{-2}$
19	логистического	12.8 / 5 / 11.1*	$6.0 \cdot 10^{-2} - 0.32$
20	логистического	1.6 / 5 / 11.1	$2.1 \cdot 10^{-2} - 6.9 \cdot 10^{-2}$
21	экспоненциального	13.8 / 6 / 12.6**	$2.4 \cdot 10^{-2} - 0.48$
22	логистического	3.1 / 3 / 7.8	4.3 – 5.1
23	логистического	19.2 / 7 / 14.1	12 – 31
24	экспоненциального	7.0 / 8 / 15.5	14 – 26
25	логистического	1.9 / 6 / 12.6	51 – 75
26	логистического	0.6 / 3 / 7.8	0.44 – 1.2
27	экспоненциального	2.6 / 4 / 9.5	$3.3 \cdot 10^{-2} - 1.4$

* $\chi^2_{5, 0.01} = 15.1$.

** $\chi^2_{6, 0.01} = 16.8$.

Имеющие физический смысл оценки $c_{5\%}$ и адекватное воспроизведение $P_i^{\text{эмп}}$ получены при использовании функций лог-нормального и экспоненциального распределений. В первом случае это обеспечено тем, что область определения функции

логнормального распределения — положительные s , а во втором — тем обстоятельством, что функция экспоненциального распределения не имеет точек перегиба. Мы рекомендуем последнюю для включения в перечень, поскольку в ситуациях, аналогичных встретившейся при обработке данных для тест-системы No 4, она полезна для построения кривых эффективности.

Таким образом, мы пришли к заключению, что при построении кривых эффективности целесообразно испытывать всего две функции — логистического и экспоненциального распределений, а для определения метрологических характеристик методик использовать ту из них, которая лучше описывает эмпирическую зависимость $P_i^{\text{эмп}}$ и приводит к значению нижней границы интервала ненадежности, имеющему физический смысл.

В табл. 4.29 приведены результаты определения границ интервалов ненадежности для изученных тест-систем (при подборе характеристических кривых использовались функции логистического и экспоненциального распределений). С использованием критерия χ^2 сделан вывод об адекватном воспроизведении зависимостей $P_i^{\text{эмп}}(c)$ для 24 тест-систем из 27 ($\chi_{\text{экср}}^2 < \chi_{f, 0.05}^2$ или, в худшем случае, $\chi_{\text{экср}}^2 < \chi_{f, 0.01}^2$); остальные критерии указывают на адекватность описания для всех 27 систем.

4.2. Сопоставление способов назначения статистических весов

Далее изучили влияние способа назначения статистических весов на результаты расчета параметров аппроксимирующих функций и оценки метрологических характеристик методик обнаружения.

Для некоторых тест-систем частоты обнаружения аналитов были определены в нескольких сериях наблюдений. Как показали расчеты, оценки стандартных отклонений $s(P_i^{\text{эмп}})$, найденные по формуле (3.30), не слишком сильно отличаются от значений, рассчитанных по формуле (3.25), причем эти различия не оказывают

существенного влияния на выбор вида аппроксимирующей функции и мало сказываются на оценках подгоночных параметров. Иллюстрацией может служить обработка данных, относящихся к тест системе No 5 (табл. 4.30–4.32). Подтвердилось, что функция

Таблица 4.30. Экспериментальные частоты обнаружения NO_2^- с использованием РИБ- NO_2^- -Тест (тест-система No 5)

	Число измерений в серии								
	17	10	17	14	19	23	20	16	16
$c, \text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$	Частота обнаружения $P_i^{\text{эмп}}$ в серии								
0.05	0.18	0.40	0.06	0.13	0.05	0.23	0.15	0.06	0.13
0.10	0.29	0.30	0.12	0.20	0.10	0.23	0.20	0.13	0.19
0.15	0.41	0.20	0.29	0.33	0.15	0.32	0.40	0.25	0.31
0.20	0.59	0.60	0.24	0.40	0.21	0.32	0.60	0.37	0.44
0.25	0.35	0.80	0.30	0.53	0.63	0.68	0.70	0.50	0.56
0.30	0.53	0.70	0.41	0.66	0.84	0.71	0.75	0.56	0.69
0.35	0.88	0.90	0.59	0.73	0.75	0.95	0.75	0.63	0.81
0.40	1.00	0.90	0.71	0.80	0.70	1.00	0.80	0.75	0.94
0.45	0.82	1.00	0.88	0.87	1.00	0.86	0.90	0.88	1.00
0.50	1.00	0.94	0.90	0.93	1.00	0.90	1.00	0.96	1.00

Таблица 4.31. Частоты обнаружения и их стандартные отклонения для тест-системы No 5

$c, \text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$	$\overline{P_i^{\text{эмп}}}$	$s(P_i)$	
		расчет по формуле (3.30)	расчет по формуле (3.25)
0.05	0.146	0.037	0.029
0.10	0.191	0.024	0.032
0.15	0.301	0.029	0.037
0.20	0.408	0.051	0.040
0.25	0.559	0.054	0.040
0.30	0.655	0.043	0.039
0.35	0.779	0.040	0.034
0.40	0.846	0.040	0.029
0.45	0.908	0.023	0.024
0.50	0.959	0.014	0.016

Таблица 4.32. Значения параметров аппроксимирующих функций, статистики χ^2 и интервалы ненадежности для тест-системы No 5

Функция распределения	Расчет $s(P_i)$ по формуле (3.30)			Расчет $s(P_i)$ по формуле (3.25)		
	Параметры	$\chi^2_{\text{эмп}}$	$\Delta c, \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$	Параметры	$\chi^2_{\text{эмп}}$	$\Delta c, \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$
Экстремального значения первого рода (Вейбулла)	$a = 7.0 \cdot 10^{-2}$ $b = 0.18$ $k = 1.13$	25.0	$8.3 \cdot 10^{-2} - 0.77$	$a = -0.16$ $b = 0.44$ $k = 2.77$	1.9	$-6.9 \cdot 10^{-3} - 0.61$
Лапласа	$a = 0.23$ $b = 0.13$	5.4	$-5.7 \cdot 10^{-2} - 0.66$	$a = 0.23$ $b = 0.13$	5.3	$-5.5 \cdot 10^{-2} - 0.66$
Логистического	$k = 0.23$ $t = 9.3 \cdot 10^{-2}$	1.7	$-4.2 \cdot 10^{-2} - 0.66$	$k = 0.23$ $t = 9.4 \cdot 10^{-2}$	1.7	$-4.6 \cdot 10^{-2} - 0.66$
Логнормального	$\bar{c} = 0.20$ $s = 0.64$	34.1	$8.0 \cdot 10^{-2} - 0.77$	$\bar{c} = 0.21$ $s = 0.63$	40.8	$7.8 \cdot 10^{-2} - 0.77$
Нормального	$\bar{c} = 0.23$ $s = 0.16$	1.0	$-1.2 \cdot 10^{-2} - 0.56$	$\bar{c} = 0.23$ $s = 0.16$	1.1	$-1.6 \cdot 10^{-2} - 0.56$
Пуассона	$\bar{c} = 0.11$	323	$7.1 \cdot 10^{-3} - 0.76$	$\bar{c} = 0.10$	291	$7.0 \cdot 10^{-3} - 0.76$
Экспоненциаль- ного	$a = 7.4 \cdot 10^{-2}$ $b = 0.17$	29.2	$8.3 \cdot 10^{-2} - 0.86$	$a = 7.7 \cdot 10^{-2}$ $b = 0.17$	28.0	$8.6 \cdot 10^{-2} - 0.88$

5%-ные точки распределения χ^2 : $\chi^2_{f=6} = 12.6, \chi^2_{f=7} = 14.1, \chi^2_{f=8} = 15.5$ [186].

распределения Вейбулла обоснованно исключена из перечня аппроксимирующих: оценки параметров показали низкую устойчивость к варьированию способа назначения статистических весов; функция распределения Пуассона не смогла даже грубо воспроизвести зависимость $P_i^{\text{эмп}}$ от c_i ; для остальных функций существенного влияния способа назначения весов на значения подгоночных параметров не обнаружено.

Обнаружение нечувствительности выбора функций, аппроксимирующих зависимости $P_i^{\text{эмп}}$ от c , и метрологических характеристик методик обнаружения к варьированию статистических весов породило вопрос: нельзя ли их назначение кардинально упростить?

Мы провели расчеты еще для двух для способов определения весов, основанных на примитивных моделях погрешностей P_i .

В одной модели принимали, что все $P_i^{\text{эмп}}$ имеют одинаковые стандартные отклонения $s(P_i^{\text{эмп}}) = 0.02$. Тогда статистические веса, назначаемые как

$$w_i = \frac{1}{s(P_i^{\text{эмп}})^2} \quad (4.1)$$

тоже одинаковы.

В другой модели допускали, что одинаковы относительные стандартные отклонения $s_r(P_i^{\text{эмп}}) = 0.05$, а веса назначали как

$$w_i = \frac{1}{[P_i^{\text{эмп}} \cdot s_r(P_i^{\text{эмп}})]^2}. \quad (4.2)$$

В табл. 4.33 и 4.34 сопоставлены результаты расчетов. Для каждой из тест-систем находили подгоночные параметры той из функций (логистического или экспоненциального распределений), которая была выбрана для аппроксимации зависимости $P_i^{\text{эмп}}$ от c_i при оценке стандартных отклонений по формуле (3.25).

Легко видеть, что при назначении весов по формулам (3.25) и (4.1) параметры аппроксимирующих функций и границы интервалов ненадежности очень близки, а значения статистик $\chi^2_{\text{эксн}}$ являются величинами одного порядка. А это означает, что

Таблица 4.33. Сопоставление оценок параметров аппроксимирующих функций при разных способах назначения статистических весов

No / параметры	Параметры функции распределения			Значения $\chi^2_{\text{эксп}}$			$\chi^2_{f, 0.05}$
	Формула для $s(P_i)$			Формула для $s(P_i)$			
	(3.25)	(4.1)	(4.2)	(3.25)	(4.1)	(4.2)	
1	2	3	4	5	6	7	8
1 a b	26.0 40.6	26.1 42.1	23.7 50.7	2.9	2.8	5.5	9.5
2 k t	$3.9 \cdot 10^{-3}$ $1.3 \cdot 10^{-4}$	$3.9 \cdot 10^{-3}$ $1.3 \cdot 10^{-4}$	$3.9 \cdot 10^{-3}$ $1.3 \cdot 10^{-4}$	6.9	1.1	1.7	11.1
3 k t	2.53 0.27	2.52 0.27	2.51 0.23	9.4	15.8	1.8	12.6
4 a b	$1.4 \cdot 10^{-3}$ $1.5 \cdot 10^{-2}$	$1.3 \cdot 10^{-3}$ $1.6 \cdot 10^{-2}$	$7.7 \cdot 10^{-4}$ $1.7 \cdot 10^{-2}$	3.2	2.2	1.1	14.1
5 a b	$7.7 \cdot 10^{-2}$ 0.17	$4.0 \cdot 10^{-2}$ 0.23	$9.9 \cdot 10^{-3}$ 0.33	28.0	15.1	14.4	15.5
6 k t	5.38 0.74	5.35 0.81	5.04 0.56	5.1	2.4	19.4	12.6
7 k t	$5.1 \cdot 10^{-2}$ $1.0 \cdot 10^{-2}$	$5.1 \cdot 10^{-2}$ $1.1 \cdot 10^{-2}$	$5.1 \cdot 10^{-2}$ $9.9 \cdot 10^{-3}$	4.7	7.2	4.0	11.1
8 k t	0.14 $2.7 \cdot 10^{-2}$	0.14 $2.8 \cdot 10^{-2}$	0.14 $2.5 \cdot 10^{-2}$	0.8	1.3	4.6	7.8
9 k t	0.27 $5.7 \cdot 10^{-2}$	0.27 $5.5 \cdot 10^{-2}$	0.29 $7.1 \cdot 10^{-2}$	0.9	1.3	7.4	7.8
10 k t	0.18 $2.1 \cdot 10^{-2}$	0.18 $2.1 \cdot 10^{-2}$	0.18 $2.1 \cdot 10^{-2}$	2.5	1.4	0.6	14.1
11 k t	0.15 $2.7 \cdot 10^{-2}$	0.15 $3.0 \cdot 10^{-2}$	0.15 $2.9 \cdot 10^{-2}$	4.6	1.1	0.9	14.1
12 k t	0.33 $3.6 \cdot 10^{-2}$	0.33 $3.9 \cdot 10^{-2}$	0.33 $4.1 \cdot 10^{-2}$	4.1	2.8	1.0	11.1

Продолжение таблицы 4.33

1	2	3	4	5	6	7	8
13 <i>a</i> <i>b</i>	0.47 $3.9 \cdot 10^{-2}$	0.47 $3.9 \cdot 10^{-2}$	0.47 $4.1 \cdot 10^{-2}$	12.8	14.9	12.4	$\chi^2_{5,0.01}=15.1$
14 <i>k</i> <i>t</i>	$2.4 \cdot 10^{-2}$ $2.2 \cdot 10^{-3}$	$2.3 \cdot 10^{-2}$ $2.6 \cdot 10^{-3}$	$2.4 \cdot 10^{-2}$ $2.7 \cdot 10^{-3}$	13.1	9.0	4.8	$\chi^2_{5,0.01}=15.1$
15 <i>k</i> <i>t</i>	$4.1 \cdot 10^{-2}$ $1.1 \cdot 10^{-2}$	$4.1 \cdot 10^{-2}$ $1.1 \cdot 10^{-2}$	$3.9 \cdot 10^{-2}$ $9.5 \cdot 10^{-3}$	4.4	2.4	5.9	15.5
16 <i>k</i> <i>t</i>	$1.9 \cdot 10^{-2}$ $5.4 \cdot 10^{-3}$	$1.9 \cdot 10^{-2}$ $5.4 \cdot 10^{-3}$	$1.9 \cdot 10^{-2}$ $5.3 \cdot 10^{-3}$	2.2	1.2	0.7	14.1
17 <i>a</i> <i>b</i>	$1.9 \cdot 10^{-3}$ $5.8 \cdot 10^{-3}$	$1.8 \cdot 10^{-3}$ $6.4 \cdot 10^{-3}$	$1.2 \cdot 10^{-3}$ $7.7 \cdot 10^{-3}$	13.8	11.5	5.0	9.5
18 <i>k</i> <i>t</i>	$1.3 \cdot 10^{-2}$ $3.4 \cdot 10^{-3}$	$1.3 \cdot 10^{-2}$ $3.4 \cdot 10^{-3}$	$1.2 \cdot 10^{-2}$ $2.6 \cdot 10^{-3}$	9.0	2.3	23.2	14.1
19 <i>k</i> <i>t</i>	0.16 $3.4 \cdot 10^{-2}$	0.15 $3.5 \cdot 10^{-2}$	0.15 $2.6 \cdot 10^{-2}$	12.8	9.8	6.4	$\chi^2_{5,0.01}=15.1$
20 <i>k</i> <i>t</i>	$4.0 \cdot 10^{-2}$ $6.4 \cdot 10^{-3}$	$4.0 \cdot 10^{-2}$ $6.6 \cdot 10^{-3}$	$4.0 \cdot 10^{-2}$ $6.9 \cdot 10^{-3}$	1.6	1.1	0.6	11.1
21 <i>a</i> <i>b</i>	$1.9 \cdot 10^{-2}$ 0.10	$1.9 \cdot 10^{-2}$ 0.10	$1.1 \cdot 10^{-2}$ 0.18	13.8	39.0	63.0	$\chi^2_{6,0.01}=16.8$
22 <i>k</i> <i>t</i>	4.63 0.11	4.64 0.11	4.65 0.13	3.1	7.7	4.7	7.8
23 <i>k</i> <i>t</i>	19.2 2.6	19.2 2.5	19.3 2.4	19.2	3.5	1.2	14.1
24 <i>a</i> <i>b</i>	13.6 2.68	13.5 2.76	13.4 4.27	7.0	9.8	55.1	15.1
25 <i>k</i> <i>t</i>	60.4 3.2	60.4 3.2	60.3 3.0	1.9	0.5	0.5	12.6
26 <i>k</i> <i>t</i>	0.73 $9.6 \cdot 10^{-2}$	0.73 $9.5 \cdot 10^{-2}$	0.73 $9.5 \cdot 10^{-2}$	0.6	0.4	0.1	7.8
27 <i>a</i> <i>b</i>	$1.7 \cdot 10^{-2}$ 0.31	$1.7 \cdot 10^{-2}$ 0.31	$7.9 \cdot 10^{-3}$ 0.35	2.6	2.7	4.3	9.5

Таблица 4.34. Сопоставление границ интервалов ненадежности при разных способах назначения статистических весов

No	$\Delta c, \text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$		
	Формула для $s(P_i)$		
	(3.25)	(4.1)	(4.2)
1	2	3	4
1	24 – 213	24 – 220	24 – 257
2	$3.5 \cdot 10^{-3} - 4.6 \cdot 10^{-3}$	$3.6 \cdot 10^{-3} - 4.6 \cdot 10^{-3}$	$3.5 \cdot 10^{-3} - 4.6 \cdot 10^{-3}$
3	1.8 – 3.8	1.7 – 3.8	1.8 – 3.6
4	$2.2 \cdot 10^{-3} - 7.1 \cdot 10^{-2}$	$2.1 \cdot 10^{-3} - 7.5 \cdot 10^{-2}$	$1.6 \cdot 10^{-3} - 7.9 \cdot 10^{-2}$
5	$8.6 \cdot 10^{-2} - 0.88$	$5.1 \cdot 10^{-2} - 1.1$	$2.6 \cdot 10^{-2} - 1.5$
6	3.2 – 8.8	3.0 – 9.0	3.4 – 7.6
7	$2.1 \cdot 10^{-2} - 9.6 \cdot 10^{-2}$	$1.9 \cdot 10^{-2} - 0.10$	$2.2 \cdot 10^{-2} - 9.7 \cdot 10^{-2}$
8	$6.1 \cdot 10^{-2} - 0.26$	$5.8 \cdot 10^{-2} - 0.27$	$6.2 \cdot 10^{-2} - 0.26$
9	0.10 – 0.53	0.11 – 0.53	$8.1 \cdot 10^{-2} - 0.62$
10	0.12 – 0.27	0.12 – 0.27	0.12 – 0.27
11	$7.0 \cdot 10^{-2} - 0.27$	$6.2 \cdot 10^{-2} - 0.29$	$6.5 \cdot 10^{-2} - 0.28$
12	0.22 – 0.50	0.22 – 0.51	0.24 – 0.46
13	0.47 – 0.65	0.47 – 0.65	0.47 – 0.66
14	$1.7 \cdot 10^{-2} - 3.4 \cdot 10^{-2}$	$1.5 \cdot 10^{-2} - 3.5 \cdot 10^{-2}$	$1.6 \cdot 10^{-2} - 3.6 \cdot 10^{-2}$
15	$1.1 \cdot 10^{-2} - 8.6 \cdot 10^{-2}$	$8.6 \cdot 10^{-3} - 9.2 \cdot 10^{-2}$	$1.1 \cdot 10^{-2} - 8.3 \cdot 10^{-2}$
16	$3.4 \cdot 10^{-3} - 4.3 \cdot 10^{-2}$	$3.1 \cdot 10^{-3} - 4.4 \cdot 10^{-2}$	$3.4 \cdot 10^{-3} - 4.3 \cdot 10^{-2}$
17	$2.2 \cdot 10^{-3} - 2.9 \cdot 10^{-2}$	$2.1 \cdot 10^{-3} - 3.1 \cdot 10^{-2}$	$1.6 \cdot 10^{-3} - 3.7 \cdot 10^{-2}$
18	$4.2 \cdot 10^{-3} - 2.7 \cdot 10^{-2}$	$3.0 \cdot 10^{-3} - 2.9 \cdot 10^{-2}$	$4.3 \cdot 10^{-3} - 2.4 \cdot 10^{-2}$
19	$6.0 \cdot 10^{-2} - 0.32$	$4.7 \cdot 10^{-2} - 0.31$	$7.3 \cdot 10^{-2} - 0.27$
20	$2.1 \cdot 10^{-2} - 6.9 \cdot 10^{-2}$	$2.1 \cdot 10^{-2} - 7.0 \cdot 10^{-2}$	$2.0 \cdot 10^{-2} - 7.2 \cdot 10^{-2}$
21	$2.4 \cdot 10^{-2} - 0.48$	$2.4 \cdot 10^{-2} - 0.48$	$2.0 \cdot 10^{-2} - 0.84$
22	4.3 – 5.1	4.3 – 5.2	4.3 – 5.3
23	12 – 31	12 – 31	12 – 30
24	14 – 26	14 – 26	14 – 33
25	51 – 75	51 – 75	52 – 74
26	0.44 – 1.2	0.45 – 1.2	0.45 – 1.2
27	$3.3 \cdot 10^{-2} - 1.4$	$3.3 \cdot 10^{-2} - 1.4$	$2.6 \cdot 10^{-2} - 1.6$

простейшая возможная модель, признающая $P_i^{\text{эмп}}$ равноточными, может использоваться, наряду с моделью, учитывающей биномиальное распределение частот обнаружения, при подборе парамет-

ров характеристических кривых. Поскольку в первом случае веса одинаковы, расчеты существенно упрощаются, а перечень программных продуктов, которые можно использовать для вычислений, расширяется.

При назначении весов по формуле (4.2), значения подгоночных параметров аппроксимирующих функций для ряда тест-систем меняются на 30–200% (особенно часто в случае функции экспоненциального распределения), значительным является и различие между оценками пределов обнаружения. Следует полагать, что модель, предполагающая одинаковые относительные погрешности $P_i^{\text{эмп}}$, далека от реальности.

4.3. Результаты аппроксимации частот обнаружения с помощью кривых Пирсона

В табл. 4.35 представлены результаты аппроксимации зависимостей $P^{\text{эмп}}$ от c с помощью кривых Пирсона типа I. Адекватная аппроксимация зависимостей $P_i^{\text{эмп}}(c)$ достигнута лишь для двух систем (при расчете $\chi^2_{\text{экс}}$ веса назначали по формуле (3.25)), причем значения пределов обнаружения во многих случаях сильно отличались от ранее найденных. Очевидно, метод моментов нельзя рекомендовать для установления метрологических характеристик методик обнаружения с бинарным откликом.

По всей вероятности, неудача связана с налагаемым расчетной процедурой условием нормировки дифференциальной кривой эффективности (см. формулу (3.45)). Кроме того, выборочные моменты, найденные всего по нескольким значениям случайных величин, определяются с высокой погрешностью (выборочные моменты далеки от моментов генеральной совокупности).

Таблица 4.35. Результаты аппроксимации частот обнаружения с помощью кривых Пирсона

№	$\chi^2_{\text{эксп}} / f / \chi^2_{f, 0.05}$	$\Delta c, \text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$
1	9.77 / 2 / 9.2	35 – 162
2	42.79 / 3 / 11.3	$3.7 \cdot 10^{-3} - 4.3 \cdot 10^{-3}$
3	0.49 / 4 / 9.5	2.1 – 3.8
4	85.51 / 5 / 11.1	$1.4 \cdot 10^{-3} - 4.7 \cdot 10^{-2}$
5	37.6 / 6 / 16.8	$9.8 \cdot 10^{-2} - 0.50$
6	9.7 / 4 / 9.5	3.4 – 8.2
7	4.6 / 3 / 11.3	$3.6 \cdot 10^{-2} - 8.8 \cdot 10^{-2}$
8	1.7 / 1 / 6.6	$7.2 \cdot 10^{-2} - 0.25$
9	4.4 / 1 / 6.6	0.16 – 0.50
10	107.9 / 5 / 11.1	0.16 – 0.23
11	77.9 / 5 / 11.1	0.11 – 0.22
12	63.2 / 3 / 11.3	0.30 – 0.41
13	109.3 / 3 / 11.3	0.48 – 0.51
14	41.0 / 3 / 11.3	$2.0 \cdot 10^{-2} - 3.2 \cdot 10^{-2}$
15	53.3 / 6 / 16.8	$1.7 \cdot 10^{-2} - 0.10$
16	60.3 / 5 / 11.1	$1.3 \cdot 10^{-3} - 3.3 \cdot 10^{-2}$
17	17.3 / 2 / 9.2	$3.7 \cdot 10^{-3} - 1.3 \cdot 10^{-2}$
18	15.8 / 5 / 11.1	$6.1 \cdot 10^{-3} - 3.0 \cdot 10^{-2}$
19	99.9 / 3 / 11.3	0.11 – 0.28
20	33.5 / 3 / 11.3	$3.4 \cdot 10^{-2} - 5.6 \cdot 10^{-2}$
21	51.0 / 4 / 9.5	$3.5 \cdot 10^{-2} - 0.16$
22	6.5 / 1 / 6.6	4.6 – 4.8
23	201 / 5 / 11.1	19 – 26
24	23.5 / 6 / 16.8	14 – 18
25	60.6 / 4 / 9.5	55 – 73
26	13.1 / 1 / 6.6	0.66 – 1.20
27	75.0 / 2 / 9.2	$8.1 \cdot 10^{-2} - 0.80$

4.4. Робастное оценивание на основе использования теории нечетких множеств

Поскольку МНК-оценки параметров функций, аппроксимирующих зависимости $P^{\text{эмп}}(c)$, могут сильно зависеть от наличия в данных так называемых «грубых промахов» (результатов из-

мерений, наиболее далеко отстоящих от линии регрессии) [190], важно сопоставить МНК-оценки с их робастными аналогами.

К настоящему времени известно много робастных оценок, среди которых наибольшее распространение нашли квазиправдоподобные M -оценки (Хьюбера, L_1 — минимума суммы модулей невязок и др.), а также бивес-оценки Тьюки [187–190, 212]. Робастные методы оценивания существенно уменьшают (по сравнению с МНК) влияние «грубых промахов» на оценки подгоночных параметров.

С внедрением в регрессионный анализ алгоритмов, применяющих теорию нечетких множеств [213–215], выяснилось, что оценки, получаемые с ее использованием, также могут быть робастными. Проиллюстрируем это утверждение обработкой модельных данных. В работах [213, 216] рассмотрено оценивание параметров градуировочной прямой в соответствии с теорией нечетких множеств. Применяя линейный МНК к набору аргументов и откликов (x_i, y_i) : (1, 1.1; 2, 2.0; 3, 3.1; 4, 3.8; 5, 6.5), получили [216] регрессионное уравнение

$$y = -0.480 + 1.260 x. \quad (4.3)$$

Сравнение графика зависимости (x_i, y_i) с прямой, задаваемой уравнением (4.3) (рис. 4.2), подталкивает к заключению о том, что, возможно, измерение (5, 6.5) является грубым промахом и сильно искажает МНК-оценки регрессионных коэффициентов. В такой ситуации необходимо робастное оценивание. Применив метод наименьших модулей (МНМ), нашли робастные оценки, существенно отличающиеся от оценок МНК [216]:

$$y = 0.190 + 0.920 x. \quad (4.4)$$

Параметры уравнения прямой также нашли с использованием аппарата теории нечетких множеств [213]. Результаты N измерений представляли нечеткими точками $X_i, i = 1, 2, \dots, N$. Проводя фаззификацию (переводя реальные значения в нечеткие), учитывали

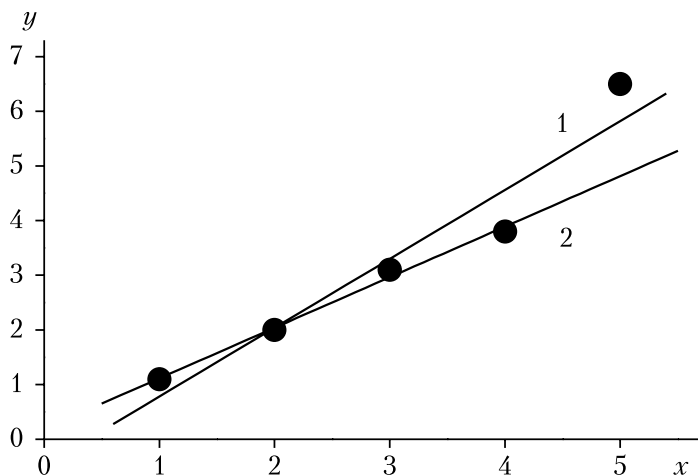


Рис. 4.2. Сравнение аппроксимации модельных данных (точки) прямыми, построенными с помощью МНК (1) и МНМ (2)

неопределенность аргументов $x_i^{\text{изм}}$ и откликов $y_i^{\text{изм}}$. Принимали, что неопределенность i -го наблюдения можно представить эллипсом с центром в точке с координатами $(x_i^{\text{изм}}, y_i^{\text{изм}})$ и полуосями u_i и v_i (длины полуосей можно интерпретировать как оценки погрешностей аргумента и отклика, соответственно), и в области внутри эллипса функцию принадлежности задавали как

$$\mu_i = 1 - \left[\left(\frac{x_i^{\text{изм}} - x_i}{u_i} \right)^2 + \left(\frac{y_i^{\text{изм}} - y_i}{v_i} \right)^2 \right]. \quad (4.5)$$

Множеством допустимых значений (x_i, y_i) считали область Евклидова пространства X_0 , в которой $\mu_i > 0$, и вводили объединение Z нечетких точек X_i с функцией принадлежности μ_Z :

$$Z: \mu_Z(x_i, y_i) = \max_i \mu_i. \quad (4.6)$$

Уравнение прямой имеет вид

$$y = a_0 + a_1 x. \quad (4.7)$$

Относительную мощность (m_c) объединения Z вдоль прямой, задаваемой уравнением (4.7) с коэффициентами a_0, a_1 , можно использовать как меру качества аппроксимации объединения Z данной прямой [213]:

$$m_c = \int_{X_0} \mu_Z(x, a_0 + a_1 x) dx \bigg/ \int_{X_0} dx. \quad (4.8)$$

Применяя метод [213], определили параметры прямой, соответствующие максимуму критерия (4.8): $a_0 = 0.20, a_1 = 0.92$.

Выражение (4.8) можно заменить более простым [216], переходя от интегрирования по области X_0 к суммированию по нечетким точкам X_i . Тогда суммарная функция принадлежности результатов измерений той или иной прямой задается как среднее значение функций $\mu_{i, \text{line}}$, характеризующих принадлежность точек X_i прямой:

$$m_c = \frac{1}{N} \sum_i \mu_{i, \text{line}}. \quad (4.9)$$

По сравнению с оригинальными работами [213, 216] мы упростили расчет $\mu_{i, \text{line}}$, находя их как

$$\mu_{i, \text{line}} = 1 - \left[\left(\frac{x_i^{\text{ИЗМ}} - \hat{x}_i}{u_i} \right)^2 + \left(\frac{y_i^{\text{ИЗМ}} - \hat{y}_i}{v_i} \right)^2 \right], \quad (4.10)$$

где \hat{x}_i и \hat{y}_i — абсцисса и ордината точек пересечения аппроксимирующей прямой с полуосями эллипса, соответственно (см. рис. 4.3).

Искомые подгоночные параметры (a_0, a_1) находили как оценки, обращающие m_c в максимум.

Для прямой, построенной МНК, $m_c = 0.308$; для прямой, параметры которой найдены методом наименьших модулей, $m_c = 0.703$. С использованием теории нечетких множеств мы построили уравнение прямой, весьма близкое к полученному МНМ:

$$y = 0.189 + 0.925 x, \quad (4.11)$$

для этой аппроксимации $m_c = 0.704$.

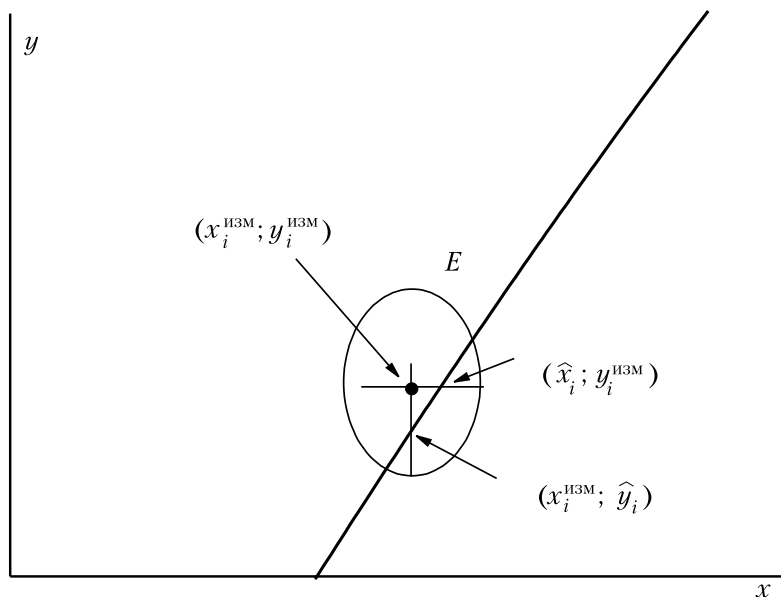


Рис. 4.3. К определению параметров прямой максимизацией функции принадлежности. Длины полуосей эллипса E равны u_i и v_i , соответственно

Описанный алгоритм, адаптированный для аппроксимации набора наблюдений $(c_i, P_i^{\text{эмп}})$ нелинейными функциями, использовали для проверки устойчивости оценок параметров функций экспоненциального и логистического распределений, аппроксимирующих зависимости $P_i^{\text{эмп}}$ от c_i . Проводя фаззификацию (переводя реальные значения в нечеткие), границы нечеткости наблюдений задавали, исходя из условий выполнения эксперимента (с учетом неопределенности концентраций аналита c_i и стандартных отклонений $P_i^{\text{эмп}}$). Принимая относительную погрешность определения концентрации аналита (δ) равной 0.01, Δc_i находили как $\delta \cdot c_i$. Значения ΔP_i приравнивали стандартным отклонениям, рассчитанным по формуле (3.25).

В табл. 4.36 сопоставлены результаты расчета параметров характеристических кривых и границ интервалов ненадежности методом максимизации суммарной функции принадлежности m_c и с использованием МНК при назначении весов по формуле (3.25). Найденные разными методами оценки параметров оказались близкими, а максимальные отличия в значениях границ интервалов ненадежности не превышали 10%, что указывает на устойчивость МНК-оценок и освобождает от применения робастных методов оценивания параметров характеристических кривых.

Таблица 4.36. Сопоставление оценок параметров аппроксимирующих функций и интервалов ненадежности для тест-систем. В скобках указаны стандартные отклонения параметров

№	Параметры выбранной функции распределения		Δc , мг·л ⁻¹	
	МНК-оценки	Робастные оценки	МНК-оценивание	Робастное оценивание
1	2	3	4	5
1	$a = 26.0 (0.3)$ $b = 40.6 (0.4)$	$a = 26.25 (0.03)$ $b = 41.25 (0.02)$	24 – 213	28 – 216
2	$k = 3.9 \cdot 10^{-3} (1 \cdot 10^{-5})$ $t = 1.3 \cdot 10^{-4} (1 \cdot 10^{-5})$	$k = 4.0 \cdot 10^{-3} (2 \cdot 10^{-4})$ $t = 1.04 \cdot 10^{-4} (7 \cdot 10^{-5})$	$3.5 \cdot 10^{-3} - 4.6 \cdot 10^{-3}$	$3.7 \cdot 10^{-3} - 4.5 \cdot 10^{-3}$
3	$k = 2.53 (2 \cdot 10^{-2})$ $t = 0.27 (3 \cdot 10^{-2})$	$k = 2.53 (2 \cdot 10^{-2})$ $t = 0.32 (1 \cdot 10^{-2})$	1.8 – 3.8	1.6 – 4.0
4	$a = 1.4 \cdot 10^{-3} (7 \cdot 10^{-4})$ $b = 1.5 \cdot 10^{-2} (1 \cdot 10^{-3})$	$a = 1.4 \cdot 10^{-3} (1 \cdot 10^{-4})$ $b = 1.6 \cdot 10^{-2} (1 \cdot 10^{-3})$	$2.2 \cdot 10^{-3} - 7.1 \cdot 10^{-2}$	$2.2 \cdot 10^{-3} - 7.3 \cdot 10^{-3}$
5	$a = 7.7 \cdot 10^{-2} (5 \cdot 10^{-3})$ $b = 0.17 (1 \cdot 10^{-2})$	$a = 9.0 \cdot 10^{-2} (2 \cdot 10^{-2})$ $b = 0.17 (3 \cdot 10^{-2})$	$8.6 \cdot 10^{-2} - 0.88$	$9.8 \cdot 10^{-2} - 0.87$
6	$k = 5.38 (0.10)$ $t = 0.74 (5 \cdot 10^{-2})$	$k = 5.35 (0.10)$ $t = 0.71 (0.06)$	3.2 – 8.8	3.3 – 8.6
7	$k = 5.1 \cdot 10^{-2} (1 \cdot 10^{-3})$ $t = 1.0 \cdot 10^{-2} (1 \cdot 10^{-3})$	$k = 5.0 \cdot 10^{-2} (5 \cdot 10^{-3})$ $t = 1.0 \cdot 10^{-2} (3 \cdot 10^{-3})$	$2.1 \cdot 10^{-2} - 9.6 \cdot 10^{-2}$	$2.1 \cdot 10^{-2} - 9.5 \cdot 10^{-2}$
8	$k = 0.14 (2 \cdot 10^{-3})$ $t = 2.7 \cdot 10^{-2} (1 \cdot 10^{-3})$	$k = 0.14 (7 \cdot 10^{-3})$ $t = 2.6 \cdot 10^{-2} (1 \cdot 10^{-3})$	$6.1 \cdot 10^{-2} - 0.26$	$6.5 \cdot 10^{-2} - 0.26$
9	$k = 0.27 (6 \cdot 10^{-3})$ $t = 5.7 \cdot 10^{-2} (4 \cdot 10^{-3})$	$k = 0.27 (1 \cdot 10^{-2})$ $t = 5.2 \cdot 10^{-2} (1 \cdot 10^{-2})$	0.10 – 0.53	0.12 – 0.51
10	$k = 0.18 (1 \cdot 10^{-3})$ $t = 2.1 \cdot 10^{-2} (1 \cdot 10^{-3})$	$k = 0.18 (1 \cdot 10^{-2})$ $t = 2.0 \cdot 10^{-2} (5 \cdot 10^{-3})$	0.12 – 0.27	0.12 – 0.27
11	$k = 0.15 (1 \cdot 10^{-3})$ $t = 2.7 \cdot 10^{-2} (1 \cdot 10^{-3})$	$k = 0.15 (1 \cdot 10^{-3})$ $t = 2.8 \cdot 10^{-2} (1 \cdot 10^{-3})$	$7.0 \cdot 10^{-2} - 0.27$	$7.0 \cdot 10^{-2} - 0.28$

Продолжение табл. 4.36.

1	2	3	4	5
12	$k = 0.33 (3 \cdot 10^{-3})$ $t = 3.6 \cdot 10^{-2} (3 \cdot 10^{-3})$	$k = 0.33 (3 \cdot 10^{-3})$ $t = 3.8 \cdot 10^{-2} (3 \cdot 10^{-3})$	0.22 – 0.50	0.22 – 0.51
13	$a = 0.47 (4 \cdot 10^{-3})$ $b = 3.9 \cdot 10^{-2} (7 \cdot 10^{-3})$	$a = 0.47 (4 \cdot 10^{-3})$ $b = 3.9 \cdot 10^{-2} (7 \cdot 10^{-3})$	0.47 – 0.65	0.44 – 0.62
14	$k = 2.4 \cdot 10^{-2} (4 \cdot 10^{-4})$ $t = 2.2 \cdot 10^{-3} (2 \cdot 10^{-4})$	$k = 2.4 \cdot 10^{-3} (1 \cdot 10^{-3})$ $t = 2.3 \cdot 10^{-3} (4 \cdot 10^{-4})$	$1.7 \cdot 10^{-2} - 3.4 \cdot 10^{-2}$	$1.7 \cdot 10^{-2} - 3.4 \cdot 10^{-2}$
15	$k = 4.1 \cdot 10^{-2} (1 \cdot 10^{-3})$ $t = 1.1 \cdot 10^{-2} (1 \cdot 10^{-3})$	$k = 4.1 \cdot 10^{-2} (4 \cdot 10^{-3})$ $t = 1.0 \cdot 10^{-2} (3 \cdot 10^{-3})$	$1.1 \cdot 10^{-2} - 8.6 \cdot 10^{-2}$	$1.1 \cdot 10^{-2} - 8.7 \cdot 10^{-2}$
16	$k = 1.9 \cdot 10^{-2} (2 \cdot 10^{-4})$ $t = 5.4 \cdot 10^{-3} (2 \cdot 10^{-4})$	$k = 1.9 \cdot 10^{-2} (2 \cdot 10^{-4})$ $t = 5.6 \cdot 10^{-3} (2 \cdot 10^{-4})$	$3.4 \cdot 10^{-3} - 4.3 \cdot 10^{-2}$	$2.7 \cdot 10^{-3} - 4.5 \cdot 10^{-2}$
17	$a = 1.9 \cdot 10^{-3} (5 \cdot 10^{-4})$ $b = 5.8 \cdot 10^{-3} (8 \cdot 10^{-4})$	$a = 2.5 \cdot 10^{-3} (5 \cdot 10^{-4})$ $b = 5.8 \cdot 10^{-3} (7 \cdot 10^{-4})$	$2.2 \cdot 10^{-3} - 2.9 \cdot 10^{-2}$	$2.7 \cdot 10^{-3} - 2.9 \cdot 10^{-2}$
18	$k = 1.3 \cdot 10^{-2} (2 \cdot 10^{-4})$ $t = 3.4 \cdot 10^{-3} (2 \cdot 10^{-4})$	$k = 1.3 \cdot 10^{-4} (2 \cdot 10^{-4})$ $t = 3.7 \cdot 10^{-3} (2 \cdot 10^{-4})$	$4.2 \cdot 10^{-3} - 2.7 \cdot 10^{-2}$	$2.3 \cdot 10^{-3} - 3.0 \cdot 10^{-2}$
19	$k = 0.16 (5 \cdot 10^{-3})$ $t = 3.4 \cdot 10^{-2} (4 \cdot 10^{-3})$	$k = 0.16 (5 \cdot 10^{-3})$ $t = 3.3 \cdot 10^{-2} (5 \cdot 10^{-3})$	$6.0 \cdot 10^{-2} - 0.32$	$6.2 \cdot 10^{-2} - 0.31$
20	$k = 4.0 \cdot 10^{-2} (3 \cdot 10^{-4})$ $t = 6.4 \cdot 10^{-3} (3 \cdot 10^{-4})$	$k = 4.0 \cdot 10^{-2} (3 \cdot 10^{-4})$ $t = 6.0 \cdot 10^{-3} (3 \cdot 10^{-4})$	$2.1 \cdot 10^{-2} - 6.9 \cdot 10^{-2}$	$2.3 \cdot 10^{-2} - 6.7 \cdot 10^{-2}$
21	$a = 1.9 \cdot 10^{-2} (1 \cdot 10^{-2})$ $b = 0.10 (2 \cdot 10^{-2})$	$a = 3.0 \cdot 10^{-2} (1 \cdot 10^{-2})$ $b = 7.0 \cdot 10^{-2} (2 \cdot 10^{-2})$	$2.4 \cdot 10^{-2} - 0.48$	$3.4 \cdot 10^{-2} - 0.35$
22	$k = 4.63 (0.01)$ $t = 0.11 (1 \cdot 10^{-2})$	$k = 4.62 (1 \cdot 10^{-2})$ $t = 0.10 (1 \cdot 10^{-2})$	4.3 – 5.1	4.3 – 5.1
23	$k = 19.2 (0.1)$ $t = 2.6 (0.1)$	$k = 19.3 (0.1)$ $t = 2.5 (0.1)$	12 – 31	12 – 31
24	$a = 13.6 (6 \cdot 10^{-2})$ $b = 2.68 (0.17)$	$a = 13.40 (0.1)$ $b = 2.55 (0.20)$	14 – 26	14 – 25
25	$k = 60.4 (1.0)$ $t = 3.2 (0.5)$	$k = 60.4 (1.0)$ $t = 3.2 (0.5)$	51 – 75	51 – 75
26	$k = 0.73 (5 \cdot 10^{-3})$ $t = 9.6 \cdot 10^{-2} (3 \cdot 10^{-3})$	$k = 0.73 (5 \cdot 10^{-3})$ $t = 0.10 (3 \cdot 10^{-3})$	0.44 – 1.2	0.44 – 1.2
27	$a = 1.7 \cdot 10^{-2} (1 \cdot 10^{-2})$ $b = 0.31 (5 \cdot 10^{-2})$	$a = 1.2 \cdot 10^{-2} (1 \cdot 10^{-2})$ $b = 0.29 (3 \cdot 10^{-2})$	$3.3 \cdot 10^{-2} - 1.4$	$2.8 \cdot 10^{-2} - 1.4$

ГЛАВА 5. МЕТОДИКИ ПРИГОТОВЛЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ТЕСТ-СРЕДСТВ ОБНАРУЖЕНИЯ АНАЛИТОВ

5.1. Реагентные индикаторные бумаги

В качестве тест-средств использовали следующие виды индикаторной бумаги.

РИБ-Cd-Тест изготовили из нерегулярной 1-(2-метоксифенил)-5-(4-метил-1,6-дигидро-1Н-6-оксопиримидин-2-ил)-формазан-6-целлюлозы с ковалентно закрепленным реагентом. РИБ применяли в режиме концентрирования, пропуская в течение 5 мин 20 мл анализируемого раствора в камеру концентрирующего устройства. Бумагу подсушивали на воздухе и сравнивали ее окраску со шкалой. В растворе поддерживали значение pH 9 добавками боратного буфера. Окраска бумаги менялась от светло-оранжевой до красно-коричневой [34, 165, 217].

Применяли **РИБ-Fe(II)-Тест** с иммобилизованным гексацианоферратом (III) цирконила. При взаимодействии иммобилизованного реагента с железом (II) светло-лимонная бумага приобретала сине-голубой цвет. Измерения вели в режиме концентрирования (20 мл / 5 мин) при pH 3, добавляя в исследуемые растворы уксусную кислоту [34, 165, 218].

РИБ-Fe(III)-Тест изготовили путем ковалентной прививки реагента класса формазанов. Анализ проводили в режиме концентрирования (20 мл / 5 мин). Бумагу подсушивали 5 мин на воздухе и сопоставляли ее окраску с цветовой шкалой. Окраска РИБ менялась от светло-желтой до фиолетовой [34, 218].

Использовали **РИБ-NO₂⁻-Тест** с закрепленным на бумаге ароматическим амином. Индикаторную бумагу погружали в исследуемый раствор на 1–2 с и сразу сопоставляли ее окраску с цветовой шкалой. Белая РИБ приобретала розовую окраску [34].

Использовали **РИБ-Металл-Тест-II** из тетрадентатной нерегулярной 1-(2-карбоксифенил)-5-(4-метил-6-метоксипиримидин-2-ил)-формазан-6-целлюлозы для анализа суммы ионов тяжелых металлов (Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Hg^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+}). В режиме «без концентрирования» полоску бумаги погружали на 1–2 с в раствор, вынимали и, не давая ей высохнуть, наблюдали окраску. В режиме «с концентрированием» анализируемый раствор с помощью концентрирующего устройства пропускали через реакционную зону РИБ (3 мл / 30 с), бумагу в течение 5 мин слегка подсушивали и наблюдали изменение окраски реакционной зоны от светло-желтой до коричнево-фиолетовой [34, 70, 165, 219].

5.2. Тест-средства на основе пенополиуретана

Использовали пенополиуретан марки ТУ 6-305-1-87 и ОСТ 6-19-37.039-85 в виде таблеток массой 0.03–0.05 г, диаметром 16 мм, высотой 5–10 мм. Таблетки промывали раствором 0.1 моль·л⁻¹ H_2SO_4 , водой до pH 5–6, ацетоном, отжимали между листами фильтровальной бумаги и высушивали на воздухе.

Тест-средства для обнаружения Co(II) с SCN^- и хемосорбционного обнаружения нитритов готовили из ППУ по методикам, описанным в [32, 98].

Для приготовления тест-средств для обнаружения Co(II) по реакции с 2-нитрозо-1-нафтолом в присутствии дифенилгуанидина и сульфата никеля очищенные таблетки помещали в раствор реагентов (табл. 5.1), встряхивали на механическом вибросмесителе в течение 30 мин, извлекали из раствора, промокали между листами фильтровальной бумаги и высушивали на воздухе. Подготовленные таблетки имели желто-оранжевую окраску [69].

Тест-средство на основе ППУ для обнаружения суммы ионов тяжелых металлов (Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+}) с 4-(2-пиридилазо)-резорцином (ПАР) готовили и использовали в двух вариантах: сорбировали ионы металлов из раствора на ППУ с иммобилизованным реагентом или сорбировали комплексы ионов

металлов с ПАР из раствора на белые таблетки ППУ. Как оказалось, ПАР, иммобилизованный на ППУ, малоустойчив, в течение дня окраска тест-средства менялась от желтой до бурой. В случае предварительного пластифицирования таблеток ППУ триоктиламином окраска модифицированного ППУ не менялась в течение трех суток.

Таблица 5.1. Состав реagentных растворов для обнаружения Co(II)

Носитель	Концентрация реагентов в растворе, $\text{моль}\cdot\text{л}^{-1}$		
	2-нитрозо-1-нафтол	дифенилгуанидин	NiSO_4
РИБ	$1.4\cdot 10^{-2}$	$4.7\cdot 10^{-4}$	$6.5\cdot 10^{-3}$
ППУ	$5.0\cdot 10^{-5}$	$1.0\cdot 10^{-6}$	$6.5\cdot 10^{-5}$
МКК	$5.0\cdot 10^{-4}$	$1.6\cdot 10^{-5}$	$2.3\cdot 10^{-4}$
Раствор	$3.0\cdot 10^{-4}$	$6.0\cdot 10^{-6}$	$4.0\cdot 10^{-4}$

В дальнейшем использовали такую методику: очищенные таблетки ППУ выдерживали в течение часа в растворе триоктиламином, сушили на воздухе, затем таблетки встряхивали 5 мин в растворе ПАР с концентрацией $3\cdot 10^{-6}$ $\text{моль}\cdot\text{л}^{-1}$, извлекали из раствора и высушивали на воздухе.

На уровне малых концентраций аналита наблюдение окраски таблеток ППУ может осложняться. Например, трудно наблюдать начало появления желтой и голубой окраски на белом пенополиуретане (хемосорбционное обнаружение NO_2^- и Co^{2+} с SCN^-). Искажение окраски связано с рассеянием света на ячеистой поверхности ППУ. Воспроизводимость результатов ухудшалась, если выполняли наблюдения при освещении тест-средства прямыми солнечными лучами. Поэтому все наблюдения с ППУ проводили при дневном освещении в условиях рассеянного света.

5.3. Тест-средства на основе метилкремниевой кислоты

Использовали фармацевтический препарат «ЭНТЕРОС-ГЕЛЬ» с массовой долей метилкремниевой кислоты (МКК) 70%

производства ЗАО «КРЕОМА-ФАРМ», г. Киев. Препарат высушивали при 150 °С до постоянной массы.

Тест-средство для обнаружения Co(II) с 2-нитрозо-1-нафтолом в присутствии дифенилгуанидина и NiSO_4 готовили, обрабатывая порошок МКК реагентным раствором. Для улучшения смачивания поверхности сорбента вводили добавки неионогенного ПАВ ТХ-100. Приготовление тест-средства включало следующие операции: 2 г сорбента помещали в 25 мл реагентного раствора (табл. 5.1), перемешивали 30 мин с помощью магнитной мешалки, фильтровали и сушили при 40 °С. Сухой порошок сорбента встряхивали 30 мин в 25 мл раствора $0.012 \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$ ТХ-100, вновь фильтровали и сушили при 40 °С. Полученный желто-оранжевый порошок хранили в темной посуде. В течение месяца его свойства не менялись.

Тест-средство на основе МКК для обнаружения суммы ионов тяжелых металлов (Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+}) с ПАР готовили следующим образом: в 25 мл реагентного раствора, содержащего ПАР с концентрацией $5 \cdot 10^{-5} \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$ и ТХ-100 с концентрацией $0.04 \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$, помещали 1 г сорбента, перемешивали 15 мин на магнитной мешалке, фильтровали и сушили при 40 °С. Модифицированный порошок желтого цвета хранили в темной посуде в течение двух месяцев.

5.4. Тест-средства на основе желатиновых пленок для обнаружения тяжелых металлов

Использовали фотографическую пленку для офсетной печати фирмы AGFA и позитивную фотопленку МЗ-3 «Свема» с толщиной желатинового слоя ~20 мкм [124], из которых предварительно полностью удаляли галогениды серебра. Образцы пленок были бесцветными и прозрачными.

Для обнаружения суммы ионов тяжелых металлов (Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+}) с 4-(2-пиридилазо)-резорцином пленки модифицировали, выдерживая их в течение 45 мин в водном растворе

ПАР с концентрацией $1 \cdot 10^{-3}$ моль·л⁻¹. Полученные пленки желтого цвета промывали дистиллированной водой, сушили на воздухе, разрезали на отрезки нужного размера и хранили при комнатной температуре в темном закрытом месте [220–223].

Для обнаружения кобальта (II) с нитрозо-R-солью желатиновые пленки модифицировали, выдерживая их в течение 20 мин в растворе реагента с концентрацией $5 \cdot 10^{-3}$ моль·л⁻¹ и pH 3 (HCl). Пленки желтого цвета сушили на воздухе и хранили в темном месте.

5.5. Тест-средства на основе желатиновых пленок для обнаружения первичных ароматических аминов

Использовали фотографическую пленку «Микрат-300», из желатинового слоя которой предварительно удаляли галогениды серебра. Для этого пленку засвечивали при обычном освещении в течение 4 дней, помещали на 10 мин в раствор с массовыми концентрациями 88 г·л⁻¹ цитрата натрия $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 5.5\text{H}_2\text{O}$ и 6 г·л⁻¹ $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$; затем пленки фиксировали в течение 10 мин в водном растворе 1.6 моль·л⁻¹ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, промывали 20 мин дистиллированной водой и сушили на воздухе. Образцы пленок были бесцветными и прозрачными.

Для обнаружения первичных ароматических аминов пленки модифицировали, выдерживая их в течение 20 мин в 40 % (v/v) водно-этанольном растворе 0.3 моль·л⁻¹ ванилина, содержащем 0.1 моль·л⁻¹ додецилсульфата натрия. Полученные бесцветные с желтоватым оттенком пленки сушили на воздухе и хранили в темном месте.

При тест-испытании образец тест-пленки погружали на 10 с в раствор аналита, содержащий $1 \cdot 10^{-3}$ моль·л⁻¹ додецилсульфата натрия и 2 моль·л⁻¹ HCl, вынимали и наблюдали окраску через 30 мин. В присутствии первичных ароматических аминов пленка окрашивалась в лимонно-желтый цвет.

5.6. Тест-средства на основе желатиновых пленок для обнаружения восстановителей

Использовали фотографическую пленку «Микрат-300», из желатинового слоя которой предварительно удаляли галогениды серебра по методике, описанной в разделе 5.5.

Для обнаружения восстановителей пленки модифицировали, выдерживая их в течение 20 мин, периодически перемешивая, в 40 % (v/v) водно-этанольном растворе, содержащем $0.2 \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$ 2,2'-дипиридила, $4 \cdot 10^{-3} \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1} \text{ Fe}^{3+}$ и HClO_4 (pH 4). Добавку HClO_4 вносили в модифицирующий раствор до добавления Fe^{3+} для предотвращения осаждения гидроксида железа. Полученные пленки светло-желтого цвета подсушивали на воздухе до удаления капель растворителя и хранили в темном месте в стеклянных боксах с пришлифованными крышками или заклеенными в полиэтиленовую пленку.

При тест-испытании образец тест-пленки погружали на 10–15 с в раствор аналита, содержащий $0.1 \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1} \text{ HClO}_4$, вынимали и наблюдали окраску через 20 мин. В присутствии восстановителей пленка окрашивалась в ярко-розовый цвет.

5.7. Тест-средства на основе желатиновых пленок для обнаружения нитроксолина

Использовали фотографическую пленку «Микрат-300». Тест-средство готовили с использованием гексацианоферратной матрицы, образующейся в фотопленке после стандартного проявления и фиксирования. Пленку засвечивали в отраженном свете в течение ~ 1 с, проявляли, фиксировали и обрабатывали в течение 10 мин в растворе с массовыми концентрациями $88 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ цитрата натрия $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 5.5\text{H}_2\text{O}$, $6 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1} \text{ K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ [123, 126].

Для обнаружения нитроксолина тест-пленки получали, выдерживая пленки с образовавшимся $\text{Ag}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ в течение 30 мин в водном растворе с массовой концентрацией CoCl_2 $6 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$,

затем промывали дистиллированной водой и погружали на 10 мин в водный раствор $0.09 \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1} \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Полученные пленки светло-зеленого цвета промывали дистиллированной водой, сушили на воздухе и хранили в темном месте.

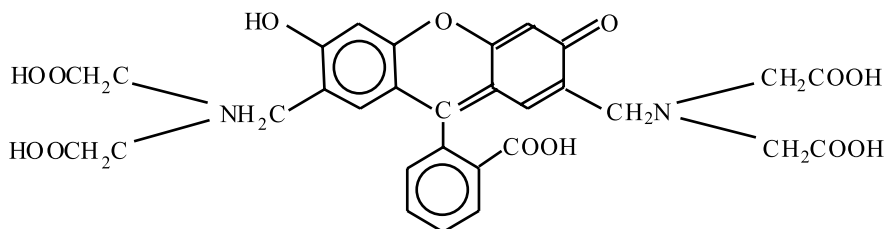
При тест-испытании образец тест-пленки погружали на 6 мин в раствор аналита с pH 12, промывали 15–20 мин дистиллированной водой, сушили на воздухе. В присутствии нитроксолина пленка окрашивалась в ярко-желтый цвет.

5.8. Тест-система для обнаружения тетрафенилборат-иона

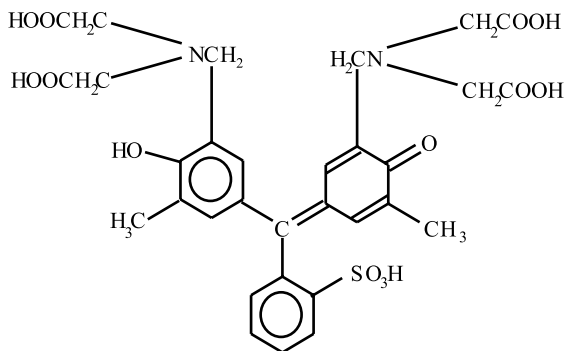
На фильтровальную бумагу наносили каплю раствора красителя катионного розового 2С с массовой долей 0.06 % и высушивали бумагу. На край бумаги (вне розового пятна красителя) наносили каплю испытуемого раствора, содержащего тетрафенилборат-ион. При положительной реакции край пятна окрашивается в фиолетовый цвет [211].

5.9. Тест-средства на основе ксерогелей

С помощью золь—гель синтеза получали органо-кремнеземные гибридные материалы с закрепленными комплексообразующими красителями трифенилметанового ряда: кальцеином (2',7'-бис-[N,N-ди(карбоксиметил)аминометил]-флуоресцеин, КЦ)



и ксиленоловым оранжевым (2-сульфобензо-ди[3-метил-4-гидрокси-5-(*N,N*-бискарбоксиметил)аминометилбензо]метан, КО)



Исходные растворы красителей готовили растворением точных навесок КО в дистиллированной воде, КЦ в смеси вода–этанол (1:3 по объему). Золь–гель синтез проводили по следующей методике [122]. К 5.0 мл тетраэтоксисилана добавляли 1.5–5.0 мл спиртовых растворов красителей с концентрациями в интервале $2.6 \cdot 10^{-4}$ – $1.9 \cdot 10^{-3}$ моль·л⁻¹ и необходимое количество этанола с условием, чтобы сумма объемов спиртового раствора красителя и добавленного этанола составляла 12.0 мл. Для ускорения гелеобразования при перемешивании в реакционную смесь вводили 2.0 мл 0.2 моль·л⁻¹ раствора (NH₄)₂[SiF₆]. После вызревания в течение 3–4 ч гель высушивали в микроволновой печи при мощности излучения 850 Вт до постоянной массы (~10 мин), измельчали и рассеивали на фракции. Использовали фракцию 250–500 мкм ксерогелей с удельными концентрациями красителей 21 мкмоль·г⁻¹ КО и 0.62 мкмоль·г⁻¹ КЦ.

Ксерогель с закрепленным КЦ применяли для обнаружения Cu(II) по тушению желто–зеленой флуоресценции кальцеина. Ионы Cu(II) сорбировали из 35 мл растворов с pH ~3.5 точными навесками материала (0.06–0.07 г) в течение 15 мин при перемешивании, отделяли твердую фазу центрифугированием, сушили

при 105 °С в течение 2 часов и сравнивали флуоресценцию образца и холостой пробы.

Ксерогель с закрепленным КО применяли для обнаружения ионов Cu^{2+} , Zn^{2+} и Pb^{2+} и их суммы (при равных массовых концентрациях). Точные навески ксерогеля (0.06–0.07 г) приводили в контакт с 35 мл растворов с рН 5–5.5, содержащих ионы металлов. Для достижения сорбционной системой равновесного состояния требуется не более 15 мин. Материал отделяли от растворов фильтрованием и сушили при 105 °С в течение 2 ч. Пурпурную окраску материала, возникающую после контакта с растворами солей металлов, сравнивали с желтой окраской холостого образца.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методики с бинарным откликом для обнаружения самых разных аналитов находят все более широкое и разнообразное применение. Очевидное отличие метрологических характеристик этих методик и процедур от характеристик количественного анализа не должно быть препятствием для включения методик обнаружения в единую систему обеспечения качества химических измерений. Поскольку математические методы исследования свойств таких методик близки к методам, интенсивно развиваемым для исследования моделей с биномиальной зависимой переменной в био-, эконо-, социо- и психометрии, важно учесть опыт, накопленный в этих предметных областях, для совершенствования метрологической основы данного вида качественного химического анализа.

Авторы полагают, что достаточно полные сведения о метрологических характеристиках методик обнаружения с бинарным откликом предоставляют всего две величины – интервал ненадежности тест-реакции и предел обнаружения (концентрация аналита, при превышении которой вероятность ложного заключения об отсутствии аналита меньше 1%). Аналогом «неопределенности» результатов количественного анализа выступает «недоверность», определяемая как вероятность ложного заключения об отсутствии аналита.

Для нахождения этих метрологических характеристик целесообразно исследовать кривые эффективности, описывающие зависимость вероятности обнаружения аналита от его концентрации. В практике обработки экспериментальных данных допустимо вид возможных кривых эффективности ограничить всего двумя функциями — логистического и экспоненциального распределений, а расчет подгоночных параметров этих функций проводить нелинейным методом наименьших квадратов, принимая, что эмпирические частоты обнаружения аналитов определены с одинаковой точностью (т.е. приписывая всем наблюдениям одинаковые стати-

стические веса). Можно считать также установленным тот факт, что получаемые МНК-оценки обладают достаточной устойчивостью к нарушению предпосылок МНК, т.е. обращение к робастной регрессии излишне.

Авторы будут признательны всем читателям, решившим поделиться своими соображениями по поводу вопросов, затронутых в монографии, и высказавшим свои замечания и предложения.

Наш адрес: kholin@univer.kharkov.ua.

ЛИТЕРАТУРА

1. Комарь Н. П. Основы качественного химического анализа. I. Ионные равновесия. — Харьков: Изд-во Харьковского ун-та, 1955. — 448 с.
2. Адамович Л. П. Рациональные приемы составления аналитических прописей. — Харьков: Изд-во Харьковского ун-та, 1973. — 96 с.
3. Кольтгоф И. М., Стенгер В. А. Объемный анализ. Т. 1. / Пер. с англ. — М.-Л.: Госхимиздат, 1950. — 376 с.
4. Батлер Дж. Ионные равновесия (математическое описание) / Пер. с англ. — Л.: Химия, 1973. — 446 с.
5. Клячко Ю. А., Шапиро С. А. Курс химического качественного анализа. — М.: Гос. научн.-тех. изд-во хим. л-ры, 1960. — 706 с.
6. Алексеев В. Н. Качественный анализ. — М.: Гос. научн.-тех. изд-во хим. л-ры, 1960. — 596 с.
7. Ляликов Ю. С., Клячко Ю. А. Теоретические основы современного качественного анализа. — М.: Химия, 1978. — 312 с.
8. Коростелев П. П. Химический анализ в металлургии. — М.: Металлургия, 1988. — 384 с.
9. Прохорова Г. В. Качественный химический анализ. Практикум для школьников. — М.: МГУ им. М.В. Ломоносова, 2006. <http://www.chem.msu.su/rus/elibrary/analyt/all.pdf>
10. Cárdenas S., Valcárcel M. Analytical features in qualitative analysis // Trends Anal. Chem. — 2005. — V. 24, No 6. — P. 477–487.
11. Национальный стандарт Российской Федерации. ГОСТ Р 52361– 2005. Контроль объекта аналитический. Термины и определения. — М.: Стандартинформ, 2005.
12. Попов А. А. Идентификация // Химическая энциклопедия. Т. 2. — М.: Сов. энциклопедия. — 1990. — С. 346–347.
13. Milman B. L. Identification of chemical compounds // Trends Anal. Chem. — 2005. — V. 24, No 6. — P. 493–508.

14. Вершинин В. И., Дерендяев Б. Г., Лебедев К. С. Компьютерная идентификация органических соединений. — М.: Академкнига, 2002. — 197 с.
15. Love J. L. Chemical metrology, chemistry and the uncertainty of chemical measurements // *Accred. Qual. Assur.* — 2002. — V. 7. — P. 95–100.
16. Metrology in Chemistry: considerations, approaches and developments on the applicability of methods of “higher order” // *Comptes Rendus Physique.* — 2004. — V. 5, No 8. — P. 907–920.
17. Marschal A., Andrieux T., Compagon P.A., Fabre H. Chemical metrology — QUID? // *Accred. Qual. Assur.* — 2002. — V. 7. — P. 42–49.
18. Williams A. Traceability and uncertainty — a comparison of their application in chemical and physical measurement // *Accred. Qual. Assur.* — 2001. — V. 6. — P. 73–75.
19. Золотов Ю. А. Метрология качественного анализа // *Журн. аналит. химии.* — 2002. — Т. 57, No 7. — С. 677.
20. Vershinin V. I. A priori method of evaluating uncertainties in qualitative chromatographic analysis: Probabilistic approach // *Accred. Qual. Assur.* — 2004. — V. 9. — P. 415–418.
21. Ríos A., Barceló D., Buydens L., Cárdenas S., Heydorn K., Karlberg B., Klemm K., Lendl B., Milman B., Neidhart B., Stephany R. W., Townshend A., Zschunke A., Valcárcel M. Quality assurance of qualitative analysis in the framework of the European project “MEQUALAN” // *Accred. Qual. Assur.* — 2003. — V. 8. — P. 68–77.
22. Trullols E., Ruisánchez I., Xavier Rius F. Validation of qualitative analytical methods // *Trends Anal. Chem.* — 2004. — V. 23, No 2. — P. 137–145.
23. Faber N. M., Boqué R. On the calculation of decision limits in doping control // *Accred. Quality Assur.* — 2006. — V. 11. — P. 536–538.
24. Pulido A., Ruisánchez I., Boqué R., Rius F.X. Uncertainty of results in routine qualitative analysis // *Trends Anal. Chem.* — 2003. — V. 22, No 10. — P. 647–654.

25. Rios A., Téllez H. Reliability of binary analytical response // Trends Anal. Chem. — 2005. — V. 24, No 6. — P. 509–515.
26. Lendl B., Karlberg B. Advancing from unsupervised, single variable-based to supervised, multivariate-based methods: A challenge for qualitative analysis // Trends Anal. Chem. — 2005. — V. 24, No. 6. — P. 488–492.
27. Pulido A., Ruisánchez I., Boqué R., Rius F. X. Estimating the uncertainty of binary test results to assess their compliance with regulatory limits // Anal. Chim. Acta. — 2002. — V. 455. — P. 267–275.
28. Simonet B. M., Rios A., Valcárcel M. Unreliability of screening methods // Anal. Chim. Acta. — 2004. — V. 516. — P. 67–74.
29. Золотов Ю. А. О тест-методах // Журн. аналит. химии. — 1996. — Т. 51, No 10. — С. 1029.
30. Евгеньев М. И. Тест-методы и экология // Соросовский образоват. журн. — 1999. — No 11. — С. 29–34.
31. Меркушев В. А., Моросанова Е. И. Возможности и перспективы применения тест-систем. // Партнеры и конкуренты. — 2005. — No 9. — С. 23–29.
32. Золотов Ю. А., Иванов В. М., Амелин В. Г. Химические тест-методы анализа. — М.: Едиториал УРСС, 2002. — 304 с.
33. Шредер Г., Ніколаєвський А., Рибаченко В., Опейда Л. Швидкі аналітичні тести в хімічних дослідженнях довкілля. — Донецьк, 2001. — 161 с.
34. Островская В. М., Запорожец О. А., Будников Г. К., Чернавская Н. М. Вода. Индикаторные системы — М.: ФГУП ВТИИ, 2002. — 266 с.
35. Munoz-Olivas R. Screening analysis: an overview of methods applied to environmental, clinical and food analyses // Trends Anal. Chem. — 2004. — V. 23, No 3. — P. 203–216.
36. Золотов Ю. А. Скрининг // Журн. аналит. химии. — 2001. — Т. 56, No 8. — С. 794.
37. Байерман К. Определение следовых количеств органических веществ: Пер. с англ. — М.: Мир, 1987. — 429 с.

38. Fearnside D., Caffoor I. The detection of pollution — some novel approaches // *Environ. Toxicology and Water Quality*. — 1998. — V. 13, No 4. — P. 347–357.
39. Муравьев А. Г. Руководство по определению показателей качества воды полевыми методами. — СПб: «Крисмас+», 1999. — 232 с.
40. Wang J., Pumera M., Chatrathi M. P., Escarpa A., Musameh M., Collins G., Mulchandani A., Lin Y., Olsen K. Single-channel microchip for fast screening and detailed identification of nitroaromatic explosives or organophosphate nerve agents // *Anal. Chem.* — 2002. — V. 74, No 5. — P. 1187–1191.
41. Van Der Veen A. M. H. Measurement uncertainty and doping control in sport. Part 2: Metrological traceability aspects // *Accred. Qual. Assur.* — 2004. — V. 9, No 6. — P. 311–316.
42. Farré M., Brix R., Barceló D. Screening water for pollutants using biological techniques under European Union funding during the last 10 years // *Trends Anal. Chem.* — 2005. — V. 24, No 6. — P. 532–545.
43. Mizuguchi H., Atsumi H., Hashimoto K., Shimada Y., Kudo Y., Endo M., Yokota F., Shida J., Yotsuyanagi T. Highly sensitive colour change system within slight differences in metal ion concentrations based on homo-binuclear complex formation equilibrium for visual threshold detection of trace metal ions // *Anal. Chim. Acta.* — 2004. — V. 527. — P. 131–138.
44. Veselova I. A., Shekhovtsova T. N. Visual determination of mercury(II) using horseradish peroxidase immobilized on polyurethane foam // *Anal. Chim. Acta.* — 1999. — V. 392. — P. 151–158.
45. Fake R. E., Routledge A. Rapid detection of hydroxyl groups on solid-phase // *Tetrahedron Let.* — 2004. — V. 45. — P. 8925–8926.
46. Shannon S. K., Barany G. Colorimetric monitoring of solid-phase aldehydes using 2,4-dinitrophenylhydrazine // *J. Comb. Chem.* — 2004. — V. 6. — P. 165–170.
47. Чмиль В. Д., Давидюк Е. И., Голохова Е. В. Использование методов скрининга при определении остатков пестицидов

- в пищевых продуктах // Проблемы харчування. — 2006. — No 2. http://www.medved.kiev.ua/arh_nutr/nt2_2006.htm
48. Evans M. I., Galen R. S., Britt D. W. Principles of screening // *Seminars in Perinatology*. — 2005. — V. 29. — P. 364–366.
49. Forsum U., Hallander H. O., Kallner A., Karlsson D. The impact of qualitative analysis in laboratory medicine // *Trends Anal. Chem.* — 2005. — V. 24, No. 6. — P. 546–555.
50. Notarianni L. J., Belk D., Collins A. J. False positives and negatives in routine testing for drugs of abuse // *Lancet*. — 1995. — V. 345. — P. 1115.
51. Goryacheva I. Yu., Beloglazova N. V., Eremin S. A., Mikhirev D. A., Niessner R., Knopp D. Gel-based immunoassay for non-instrumental detection of pyrene in water samples // *Talanta*. — 2008. — V. 75, No 2. — P. 517–522.
52. Zolotov Yu. A., Ivanov V. M., Amelin V. G. Test methods for extra-laboratory analysis // *Trends Anal. Chem.* — 2002. — V. 21, No 4. — P. 302–319.
53. Бланк А. Б. Метрологические аспекты аналитического контроля состава материалов // *Журн. аналит. химии*. — 1997. — Т. 52, No 7. — С. 800–807.
54. Петрова Ю. Ю., Беклемишев М. К., Бажанова Н. А., Дружинин А. А., Долманова И. Ф. Определение меди по ее каталитическому действию в реакции окисления гидрохинона пероксидом водорода, проводимой на носителях // *Журн. аналит. химии*. — 2000. — Т. 55, No 3. — С. 318–325.
55. Долманова И. Ф., Шеховцова Т. Н., Беклемишев М. К. Сорбционно-каталитические тест-методы // *Журн. аналит. химии*. — 2002. — Т. 57, No 10. — С. 1043–1051.
56. Иммуноферментный анализ / Под ред. Т. Т. Нго, Г. Ленхоффа. — М.: Мир, 1988. — 444 с.
57. Дзантиев Б. Б., Жердев А. В., Попов В. О., Венгеров Ю. Ю., Старовойтова Т. А., Тогузов Р. Т. Системы экспрессной иммунодетекции биологически активных соединений // *Клин. и лаб. диагностика*. — 2002. — No 8. — С. 25–32.

58. Fahnrich K. A., Pravda M., Guilbault G. G. Immunochemical detection of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) // *Analyt. Let.* — 2002. — V. 35, No 8. — P. 1269–1300.
59. León-Ruiz V., Vera S., San Andrés M. P. Validation of a screening method for the simultaneous identification of fat-soluble and water-soluble vitamins (A, E, B₁, B₂ and B₆) in an aqueous micellar medium of hexadecyltrimethylammonium chloride // *Anal. Bional. Chem.* — 2005. — V. 381. — P. 1568–1575.
60. Вершинин В. И., Соколова О. В. Визуальный эффект качественной реакции как аналитический признак для компьютерной идентификации ионов // *Вестн. Омск. гос. ун-та.* — 1999. — Вып. 3. — С. 61–63.
61. Saritha K., Nanda Kumar N. V. Qualitative detection of selenium in fortified soil and water samples by a paper chromatographic — carboxyl esterase inhibition technique // *J. Chromatography A.* — 2001. — V. 919. — P. 223–228.
62. Холоденко В. П., Чугунов В. А., Жиглецова С. К., Родин В. Б., Ермоленко З. М., Фомченков В. М., Ирхина И. А., Кобелев В. С., Волков В. Я. Разработка биотехнологических методов ликвидации нефтяных загрязнений окружающей среды // *Рос. хим. журн.* — 2001. — Т. 45, No 5–6. — С. 135–141.
63. Васюков А. Е., Бланк А. Б. Химические аспекты экологической безопасности поверхностных водных объектов. — Харьков: «Институт монокристаллов», 2007. — 256 с.
64. Островская В. М. Хромогенные аналитические реагенты, закрепленные на носителях // *Журн. аналит. химии.* — 1977. — Т. 32, No 9. — С. 1820–1835.
65. Kravchenko M. S., Fumarova M. S., Bugaevski A. A. Estimation of detection limits of test methods for water analysis // *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* — 1988. — V. 33. — P. 257–267.
66. Иванов В. М., Морозко С. А., Качин С. В. Тест-методы в аналитической химии. Обнаружение и определение кобальта иммобилизованным 1-(2-пиридилазо)-2-нафтолом // *Журн. аналит. химии.* — 1994. — Т. 49, No 8. — С. 857–861.

67. Атаманиченко Я. А., Панталер Р. П., Бланк А. Б. Тест-метод определения никеля (II) в питьевой воде // Методы и объекты хим. анализа. — 2007. — Т. 2, № 1. — С. 35–39.
68. Панталер Р. П., Ивкова Т. И., Гудзенко Л. В., Гайдук О. В., Бланк А. Б. Тест-методы анализа объектов окружающей среды, технологических растворов, препаратов наркотического и психотропного действия // Вісн. Харк. нац. ун-ту. — 2001. — № 532. — Хімія. Вип. 7 (30). — С. 31–40.
69. Решетняк Е. А., Никитина Н. А., Логинова Л. П., Островская В. М. Предел обнаружения в тест-методах анализа с визуальной индикацией. Влияющие факторы // Журн. аналит. химии. — 2005. — Т. 60, № 10. — С. 1102–1109.
70. Островская В. М., Решетняк Е. А., Никитина Н. А., Пантелеймонов А. В., Холин Ю. В. Тест-метод определения суммы металлов реактивной индикаторной бумагой и его метрологические характеристики // Журн. аналит. химии. — 2004. — Т. 59, № 10. — С. 1101–1108.
71. Островская В. М. Реактивные индикаторные средства для экспрессного тестирования воды // Журн. аналит. химии. — 1996. — Т. 51, № 10. — С. 987–992.
72. Островская В. М. Реактивные индикаторные средства (РИС) для многоэлементного тестирования воды. — М.: МПО «1-ая Образцовая типография», 1992. — 32 с.
73. Амелин В. Г. Модифицированные поверхностно-активными веществами органические реагенты и реактивные индикаторные бумаги: Автореф. дис. ... д-ра хим. наук: 02.00.02. — Москва, 1998. — 35 с.
74. Амелин В. Г. Химические тест-методы определения компонентов жидких сред // Журн. аналит. химии. — 2000. — Т. 55, № 9. — С. 902–932.
75. Амелин В. Г. Тест-метод определения суммарных показателей качества вод с использованием индикаторных бумаг // Журн. аналит. химии. — 2000. — Т. 55, № 5. — С. 532–538.

76. Панталер Р. П., Тимченко А. К., Авраменко Л. И., Бланк А. Б. Экспресс-тест для определения кобальта в воде // Журн. аналит. химии. — 1998. — Т. 53, No 5. — С. 529–532.
77. Панталер Р. П., Лебедь Н. Б., Авраменко Л. И., Бланк А. Б. Экспресс-тест для обнаружения и полуколичественного определения суммы тяжелых металлов в водах // Журн. аналит. химии. — 1997. — Т. 52, No 6. — С. 643–646.
78. Гудзенко Л. В., Панталер Р. П., Авраменко Л. И., Бланк А. Б. Определение марганца в питьевой воде с использованием экспресс-теста // Журн. аналит. химии. — 1996. — Т. 51, No 9. — С. 993–996.
79. Панталер Р. П., Егорова Л. А., Авраменко Л. И., Бланк А. Б. Экспрессное полуколичественное определение остаточного активного хлора в питьевой воде с помощью индикаторной бумаги // Журн. аналит. химии. — 1996. — Т. 51, No 5. — С. 521–524.
80. Панталер Р. П., Тимченко А. К., Авраменко Л. И., Бланк А. Б. Экспрессное полуколичественное определение железа в питьевой воде с помощью индикаторной бумаги // Журн. аналит. химии. — 1997. — Т. 52, No 4. — С. 384–386.
81. Долманова И. Ф., Шеховцова Т. Н., Беклемишев М. К. Сорбционно-каталитические тест-методы // Журн. аналит. химии. — 2002. — Т. 57, No 10. — С. 1043–1051.
82. Шеховцова Т. Н., Чернецкая С. В., Белкова Н. В., Долманова И. Ф. Тест-метод определения ртути на уровне ПДК с использованием пероксидазы, иммобилизованной на бумаге // Журн. аналит. химии. — 1995. — Т. 50, No 5. — С. 538–542.
83. Beklemishev M. K., Stoyan T. A., Dolmanova I. F. Sorption-catalytic determination of manganese directly on a paper-based chelating sorbent // Analyst. — 1997. — V. 122. — P. 1161–1165.
84. Багирова Н. А., Шеховцова Т. Н., Табатчикова Н. В., Ван Хьюсти Р. Б. Ферментативный метод определения фенолов с использованием пероксидазы арахиса // Журн. аналит. химии. — 2000. — Т. 55, No 1. — С. 93–101.

85. Амелин В. Г. Применение в тест-методах индикаторных бумаг, содержащих дитизонаты металлов // Журн. аналит. химии. — 1999. — Т. 54, No 7. — С. 753–757.
86. Амелин В. Г., Иванов В. М. Тест-метод анализа с применением иммобилизованных на бумаге ассоциатов азопроизводных пирокатехина, триоксифлуоронов с цетилпиридином и их хелатов с ионами металлов // Журн. аналит. химии. — 2000. — Т. 55, No 4. — С. 411–418.
87. Панталер Р. П., Егорова Л. А., Авраменко Л. И., Бланк А. Б. Экспрессное полуколичественное определение меди в питьевой воде с помощью индикаторной бумаги // Журн. аналит. химии. — 1996. — Т. 51, No 9. — С. 997–999.
88. Дмитриенко С. Г., Пяткова Л. Н., Золотов Ю. А. Сорбция ионных ассоциатов на пенополиуретанах и ее применение в сорбционно-спектроскопических и тест-методах анализа // Журн. аналит. химии. — 2002. — Т. 57, No 10. — С. 1036–1042.
89. Дмитриенко С. Г., Золотов Ю. А. Пенополиуретаны в химическом анализе: сорбция различных веществ и ее аналитическое применение // Успехи химии. — 2002. — Т. 71, No 2. — С. 180–197.
90. Дмитриенко С. Г. Пенополиуретаны в химическом анализе: сорбция различных веществ и ее аналитическое применение: Автореф. дис. ... д-ра хим. наук: 02.00.02. — Москва, 2001. — 50 с.
91. Свиридова О. А. Пенополиуретаны — новый тип полимерных хромогенных реагентов для спектроскопии диффузного отражения и тест-методов анализа: Автореф. дис. ... канд-та хим. наук: 02.00.02. — Москва, 2002. — 23 с.
92. Dmitrienko S. G., Sviridova O. A., Pyatkova L. N., Myshak E. N., Shelmenkova O. V., Zolotov Yu. A. Chemical reactions of terminal groups in polyurethane foams // Mendeleev Commun. — 2000. — No 6. — P. 244–245.
93. Дмитриенко С. Г. Сорбционно-фотометрические тест-методы анализа с применением пенополиуретанов. Практическое руководство. — М.: МГУ, 2003. — 33 с.

94. Дмитриенко С. Г., Пяткова Л. Н., Рунов В. К. Оптические сорбционно-молекулярно-спектроскопические методы анализа. Сорбция ионных ассоциатов трис-(1,10-фенантролин)железа(II) пенополиуретанами и ее аналитическое применение // Журн. аналит. химии. — 1996. — Т. 51, No 6. — С. 600–604.
95. Медведева О. М. Определение фенолкарбоновых кислот методом капиллярного зонного электрофореза и спектроскопии диффузного отражения после сорбционного концентрирования: Автореф. дис. ... канд-та хим. наук: 02.00.02. — Москва, 2004. — 23 с.
96. Дмитриенко С. Г., Пяткова Л. Н., Бахаева Л. П., Рунов В. К., Золотов Ю. А. Оптические сорбционно-молекулярно-спектроскопические методы анализа. Применение пенополиуретанов и сульфоталеиновых красителей для определения катионных поверхностно-активных веществ // Журн. аналит. химии. — 1996. — Т. 51, No 5. — С. 493–497.
97. Dmitrienko S. G., Sviridova O. A., Pyatkova L. N., Zhukova V. A., Zolotov Yu. A. Rapid determination of free active chlorine in water by diffuse reflectance spectroscopy after reaction with polyurethane foams // Anal. Chim. Acta. — 2000. — V. 405, No 1–2. — P. 231–237.
98. Дмитриенко С. Г., Свиридова О. А., Белоусова С. Б., Пяткова Л. Н., Золотов Ю. А. Определение нитрит-ионов с применением пенополиуретанов // Зав. лаб. — 2000. — Т. 66, No 2. — С. 10–14.
99. Золотов Ю. А., Цизин Г. А., Моросанова Е. И., Дмитриенко С. Г. Сорбционное концентрирование микрокомпонентов для целей химического анализа // Успехи химии. — 2005. — Т. 74, No 1. — С. 41–66.
100. Запорожец О. А., Гавер О. М., Сухан В. В. Иммобилизация аналитических реагентов на поверхности носителей // Успехи химии. — 1997. — Т. 66, No 7. — С. 702–712.
101. Jesionowsky T., Binkowsky S., Krystafkiewicz A. Adsorption of the selected organic dyes on the functionalized surface of

- precipitated silica via emulsion route // *Dyes and Pigments*. — 2005. — V. 65. — P. 267–279.
102. Jesiolowski T. Synthesis of organic–inorganic hybrids via adsorption of dye on an aminosilane-functionalised silica surface // *Dyes and Pigments*. — 2002. — V. 55. — P. 133–141.
103. Иванов В. М., Кузнецова О. В. Имобилизованный 4-(2-тиазолилазо)резорцин как аналитический реагент. Тест-реакции на кобальт, палладий, уран // *Журн. аналит. химии*. — 1995. — Т. 50, No 5. — С. 498–504.
104. Максимова И. М., Моросанова Е. И. Сорбция кобальта на гидрофобном силикагеле C_{16} , модифицированном 1-нитрозо-2-нафтолом. // *Журн. аналит. химии*. — 1994. — Т. 49, No 6. — С. 602–606.
105. Табенська Т. В., Запорожець О. А., Боряк А. К. Сорбція кобальту(II) силікагелем, модифікованим 1-нітрозо-2-нафтолом та її аналітичне застосування // *Укр. хим. журн.* — 2000. — Т. 66, No 1. — С. 41–44.
106. Zaporozhets O., Petruniok N., Bessarabova O., Sukhan V. Determination of Cu(II) and Zn(II) using gel loaded with 1-(2-thiasolylazo)-2-naphtol // *Talanta*. — 1999. — V. 49. — P. 899–906.
107. Zaporozhets O., Gawer O., Sukhan V. Determination of Fe(II), Cu(II) and Ag(I) using silica gel loaded with 1,10-phenanthroline // *Talanta*. — 1998. — V. 46. — P. 1387–1394.
108. Zaporozhets O., Petruniok N., Sukhan V. Determination of Ag(I), Hg(II) and Pb(II) by using silica gel loaded with dithizone and zinc dithizonate // *Talanta*. — 1999. — V. 50. — P. 865–873.
109. Запорожець О. А. Адсорбовані на кремнеземах органічні реагенти у комбінованих спектроскопічних і тест-методах аналізу: Автореф. дис. ... д-ра хімічних наук: 02.00.02. — Київ, 2003. — 34 с.
110. Collinson M. M. Recent trends in analytical applications of organically modified silicate materials // *Trends Analyt. Chem.* — 2002. — V. 21, No 1. — P. 30–38.
111. Morosanova E. I., Velikorodnyi A. A., Zolotov Yu. A., Skorniyakov V. I. Modifying silicic acid xerogels and accelerating het-

- erogeneous reactions with their participation with the use of microwave radiation // J. Anal. Chem. — 2000. — V. 55, No 12. — P. 1136–1141.
112. Morosanova E. I., Velikorodny A., Zolotov Yu. New sorbents and indicator powders for preconcentration and determination of trace metals in liquid samples // Fresenius J. Anal. Chem. — 1998. — V. 361. — P. 305–308.
113. Azolin D. R., Moro C. C., Costa T. M. H., Benvenuti E. V. Effects of organic content and $H_2O/TEOS$ molar ratio on the porosity and pore size distribution of hybrid naphthaleneaminepropyl-silica xerogel // J. Non-Crystalline Solids. — 2004. — V. 337. — P. 201–206.
114. Magosso H. A., Panteleimonov A. V., Kholin Y. V., Gushikem Y. Synthesis, characterization and metal adsorption properties of the new ion exchanger polymer 3-n-propyl(4-methylpyridinium) silsesquioxane chloride // J. Colloid and Interf. Sci. — 2006. — V. 303. — P. 18–24.
115. Khan A., Ahmed S., Mahmood F., Khokhar M. Y. A novel dye-doped sol–gel silica sorbent for the removal of cobalt // Ads. Sci. and Technol. — 2003. — V. 21, No 3. — P. 205–215.
116. Xu Y., Liu R., Wu D., Sun Y., Gao H., Yuan H., Deng F. Ammonia-catalyzed hydrolysis kinetics of mixture of tetraethoxysilane with methyltriethoxysilane by ^{29}Si NMR // J. Non-Crystalline Solids. — 2005. — V. 351. — P. 2403–2413.
117. Morosanova E. I., Velikorodny A., Zolotov Yu. New sorbents and indicator powders for preconcentration and determination of trace metals in liquid samples // Fres. J. Anal. Chem. — 1998. — V. 361. — P. 305–308.
118. Morosanova E. I., Velikorodnyi A. A., Nikulin I. V., Puganova E. A., Zolotov Yu. A. Xerogels doped with 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol and xylenol orange: indicator tubes and indicator powders for determining copper(II) and iron(III) in solution // J. Anal. Chem. — 2000. — V. 55, No 5. — P. 486–491.
119. Моросанова Е. И. Нековалентно иммобилизованные на кремнеземах аналитические реагенты для концентрирования,

- разделения и определения органических и неорганических соединений: Автореф. дис. ... д-ра хим. наук: 02.00.02. — Москва, 2001. — 48 с.
120. Азарова Ж. М., Моросанова Е. И., Золотов Ю. А. Ксерогели, модифицированные 1-(2-пиридилазо)-2-нафтолом и диметил-глиоксимом. Индикаторные трубки для определения никеля // Журн. аналит. химии. — 2000. — Т. 55, No 7. — С. 714–718.
121. Моросанова Е. И., Великородный А. А., Никулин И. В. Ксерогели, модифицированные 1-(2-пиридилазо)-2-нафтолом и ксиленоловым оранжевым. Индикаторные трубки для определения меди (II) и железа (III) в растворах // Журн. аналит. химии. — 2000. — Т. 55, No 5. — С. 539–545.
122. Холин Ю. В., Корнеев С. В., Христенко И. В., Pissetti F., Gushikem Y. Органо–кремнеземные материалы с иммобилизованными ксиленоловым оранжевым и кальцеином: получение, физико-химические свойства, обнаружение ионов металлов // Методы и объекты хим. анализа. — 2008. — Т. 3, No 1. — С. 64–74.
123. Михайлов О. В. Низкотемпературный темплатный синтез в металлгексацианоферрат(II)ных желатин-иммобилизованных матричных системах // Рос. хим. журн. — 2000. — Т. 44, No 3. — С. 70–79.
124. Джеймс Т. Теория фотографического процесса. — Л.: Химия, 1980. — 672 с.
125. Choi M. M. F., Shuang S. Fluorescent optode membrane based on organogel for humidity sensing // Analyst. — 2000. — V. 125. — P. 301–305.
126. Логинова Л. П., Нестеренко О. Ю., Кудрис И. В. Идентификация нитроксолина с использованием гексацианоферратов (II) кобальта (II) и меди (II), иммобилизованных в желатиновой матрице // Вісн. Харк. нац. ун-ту. — 2005. No 669. — Хімія. Вип. 13 (36). — С. 93–99.
127. Логинова Л. П., Коновалова О. Ю. Метрологические характеристики обнаружения восстановителей с реагентами, им-

- мобилизованными в желатиновой плёнке // Вісн. Харк. нац. ун-ту. — 2007. No 770. — Хімія. Вип. 15 (38). — С. 90–98.
128. Шереметьев С. В., Кузнецов В. В. Реакции синтеза азокрасителей в отвержденном желатиновом геле и их аналитическое применение при определении нитритов // Журн. аналит. хим. — 2007. — Т. 62, No 4. — С. 357–363.
129. Коновалова О. Ю., Логинова Л. П. Особенности протекания индикаторной реакции на первичные ароматические амины в желатиновой плёнке // Вісн. Харк. нац. ун-ту. — 2006. No 731. — Хімія. Вип. 14 (37). — С. 112–119.
130. Рекомендации по метрологии РМГ 43-2001. Государственная система обеспечения единства измерений. Применение «Руководства по выражению неопределенности измерений».
131. Рекомендации по метрологии РМГ 61-2003. Государственная система обеспечения единства измерений. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки.
132. International vocabulary of basic and general terms in metrology. — Geneva: ISO, 1993.
133. Русско-англо-немецко-испанский словарь основных и общих терминов в метрологии. — М.: ИПК Изд-во стандартов, 1998.
134. Рекомендации по метрологии Р 50.2.038-2004. Измерения однократные прямые. Оценивание погрешностей и неопределенности результата измерений. — М.: ИПК «Издательство стандартов», 2004.
135. Государственный стандарт Российской Федерации. ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения» (полный аутентичный текст международного стандарта ISO 5725-1:1994).
136. Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 52361-2005 «Контроль объекта аналитический. Термины и определения». — М.: ИПК «Издательство стандартов», 2005.

137. IUPAC Compendium of Chemical Terminology. Electronic version. <http://goldbook.iupac.org/S05606.html>
138. The fitness for purpose of analytical methods. EURACHEM Guide. — Teddington: LGC Ltd., 1998. — 75 p.
139. EUROCHEM/CITAC Guide «Quantifying uncertainty in analytical measurements», 2nd ed., 2000. — 120 p.; Руководство ЕВРАХИМ/СИТАК «Количественное описание неопределенности в аналитических измерениях», 2-е изд. / Пер. с англ. — С.-Пб, 2002. — 141 с.
140. Дворкин В. И. Метрология и обеспечение качества количественного химического анализа. — М.: Химия, 2001. — 263 с.
141. Eurachem/ EUROLAB/ CITAC/ Nordtest/ AMC Guide: Measurement uncertainty arising from sampling: A guide to methods and approaches / M.H. Ramsey, S.L.R. Ellison (eds.). — Eurachem, 2007. — 102 p. http://www.eurachem.org/guides/UfS_2007.pdf
142. Государственный стандарт Российской Федерации. ГОСТ Р ИСО/МЭК 17025-2000. Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий.
143. Державний стандарт України. ДСТУ 180/ISO 17025-2001. Загальні вимоги до компетентності випробувальних та калібрувальних лабораторій.
144. Беседы о современной метрологии // Главный метролог. — 2006. — No 6. www.analitica.org.ru/docs/sovremen_metrolog.doc
145. Guide to the expression of uncertainty in measurement. — Geneva: ISO, 1993.
146. EURACHEM/CITAC Guide: The expression of uncertainty in qualitative testing. QAWG/03/06. — 2003. — 22 p. www.nmschembio.org.uk/dm_documents/LGCVAM2003048_cOj1.pdf
147. <http://www.eurachem.org>
148. Клячко Ю. А. Качественный анализ // Хим. энциклопедия, Т. 2. — С. 709–712.
149. Васильев В. В., Григорьев Н. Н. Практическое руководство по качественному химическому полумикроанализу. — Л.: Изд-во ЛГУ, 1966. — 264 с.

150. Commission decision of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. // Official. J. of the European Union. L 239. — 06/09/2002. — P. 0066–0066. <http://vlex.com/vid/37770160>
151. Aguilera E., Lucena R., Cardenas S., Valcarcel M., Trullols E., Rius-sanchez I. Robustness in qualitative analysis: a practical approach // Trends Anal. Chem. — 2006. — V. 25, No. 6. — P. 621–627.
152. Zorn M. E., Gibbons R. D., Sonzogni W. C. Weighted least-squares approach to calculating limits of detection and quantification by modeling variability as a function of concentration // Anal. Chem. — 1997. — V. 69. — P. 3069–3075.
153. Mocak J., Bond A. M., Mitchell S., Scollary G. A statistical overview of standard (IUPAC and ACS) and new procedures for determining the limits of detection and quantification: application to voltammetric and stripping techniques (Technical Report) // Pure Appl. Chem. — 1997. — V. 69, No. 2. — P. 297–328.
154. Handbook of Residue Analytical Methods for Agrochemicals. V. 1–2 / Eds. P.W. Lee, H. Aizawa, A. C. Barefoot, J.J. Murphy. — N.Y.: Wiley and Sons, 2003. — 1552 p.
155. Hamilton D. J., Ambrus A., Dieterle R. M., Felsot A. S., Harris C. A., Holland P. T., Katayama A., Kurihara N., Linders J., Unsworth J., Wong S.-S. Regulatory limits for pesticide residues in water (IUPAC technical report) // Pure Appl. Chem. — 2003. — V. 75, No. 8. — P. 1123–1155.
156. Иванов В. М., Морозко С. А., Массуд С. Тест-методы в аналитической химии. Реакция на уран(IV) и его определение методом спектроскопии диффузного отражения // Журн. аналит. химии. — 1995. — Т. 50, No 12. — С. 1280–1287.
157. Морозко С. А., Иванов В. М. Тест-методы в аналитической химии. Раздельное определение меди и цинка методом цветометрии // Журн. аналит. химии. — 1997. — Т. 52, No 8. — С. 858–865.
158. Ашкенази Г. И. Цвет в природе и технике. — М.: Энергоатомиздат, 1985. — 96 с.

159. Valcárcel M., Cárdenas S., Barceló D. Metrology of qualitative chemical analysis. — Luxembourg: Office for official publications of the European Communities, 2002. — 166 p.
160. Мильман Б. Л., Конопелько Л. А. Неопределенность результатов качественного химического анализа. Общие положения и бинарные тест-методы // Журн. аналит. химии. — 2004. — Т. 59, No 12. — С. 1244–1258.
161. Нейман Ю. Вводный курс теории вероятностей и математической статистики. — М.: Наука, 1968. — 448 с.
162. Plata M. R., Pérez-Cejuela N., Rodriguez J., Rios Á. Development and validation strategies for qualitative spot tests: application to nitrite control in waters // Anal. Chim. Acta. — 2005. — V. 537. — P. 223–230.
163. Ellison S. L. R., Fearn T. Characterizing the performance of qualitative analytical methods: Statistics and terminology // Trends Anal. Chem. — 2005. — V. 24, No 6. — P. 468–476.
164. Simonet B. M. Quality control in qualitative analysis // Trends Anal. Chem. — 2005. — V. 24, No 6. — P. 525–531.
165. Решетняк Е. А., Никитина Н. А., Холин Ю. В., Светлова Н. В. Островская В. М. О достоверной оценке метрологических характеристик тестового анализа // Вісн. Харк. нац. ун-ту. — 2003. No 596. — Хімія. Вип. 10 (33). — С. 90–98.
166. Emich F. Über Mikrochemie, mit besonderer Berücksichtigung der Arbeiten von H. Behrens // Berichte. — 1910. — V. 43, No 1. — P. 10–13.
167. Song R., Schlecht P.C., Ashley K. Field screening test methods: performance criteria and performance characteristics // J. Hazard. Mater. — 2001. — V. 83. — P. 29–39.
168. IUPAC Compendium of Chemical Terminology. Electronic version. <http://goldbook.iupac.org/D01629.html>.
169. Currie L. A. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995) // Pure Appl. Chem. — 1995. — V. 67, No. 10. — P. 1699–1723.

170. Currie L. A. Detection and quantification limits: origins and historical overview // *Anal. Chim. Acta.* — 1999. — V. 391, No 2. — P. 127–134.
171. Currie L. A. Detection and quantification limits: basic concepts, international harmonization, and outstanding (“low-level”) issues // *Appl. Radiation and Isotopes.* — 2004. — V. 61, No 2–3. — P. 145–149.
172. Бланк А. Б. Аналитическая химия в исследовании и производстве неорганических функциональных материалов. — Харьков: «Институт монокристаллов», 2005. — 352 с.
173. Хастингс Н., Пикок Дж. Справочник по статистическим распределениям. — М.: Статистика, 1980. — 95 с.
174. Суслов В. И., Ибрагимов Н. М., Талышева Л. П., Цыплаков А. А. Эконометрия. — Новосибирск: Издательство СО РАН, 2005. — 744 с.
175. Решетняк Е. А., Никитина Н. А., Кармазина В. Э. Влияние материала носителя на предел обнаружения при визуальном тестировании // *Вісн. Харк. нац. ун-ту.* — 2007. No 770. — Хімія. Вип. 15 (38). — С. 119–124.
176. Бугаевский А. А., Кравченко М. С. Графический анализ функций распределения вероятностей, связанных с пределом обнаружения // *Журн. аналит. химии.* — 1983. — Т. 38, No 1. — С. 17–21.
177. Бугаевский А. А., Круглов В. О., Кравченко М. С. О вероятностных моделях чувствительности качественных химических реакций // *Зав. лаб.* — 1976. — Т. 42, No 1. — С. 68–70.
178. Комарь Н. П. Особенности и возможности колориметрического и спектрофотометрического анализа // *Тр. комиссии по аналит. химии АН СССР. Т. VIII (XI).* — М.: Изд-во. АН СССР, 1958. — С. 21–51.
179. Джадд Д. Цвет в науке и технике. — М.: Мир, 1978. — 592 с.
180. Бугаевский А. А. Предел обнаружения в качественном анализе. — Харьков: ХГУ, 1985. — 26 с.
181. Справочник по прикладной статистике. Т. 1. Пер. с англ. / Под ред. Э. Ллойда, У. Ледермана, Ю. Н. Тюрина. — М.: Финансы и статистика, 1989. — 510 с.

182. Уилкс С. Математическая статистика. — М.: Наука, 1967. — 632 с.
183. Смирнов Н. В., Дунин-Барковский И. В. Курс теории вероятности и математической статистики. — М.: Наука, 1965. — 512 с.
184. Ван дер Варден Б. Л. Математическая статистика. — М.: Изд-во иностр. л-ры, 1960. — 434 с.
185. Налимов В. В. Применение математической статистики в анализе вещества. — М.: Гос. изд-во физ.-мат. л-ры, 1960. — 432 с.
186. Большев Л. Н., Смирнов Н. В. Таблицы математической статистики. — М.: Наука, 1983. — 416 с.
187. Мудров В. И., Кушко В. Л. Методы обработки измерений. Квазиправдоподобные оценки. — М.: Радио и связь, 1983. — 304 с.
188. Вучков И., Бояджиева Л., Солаков Е. Прикладной линейный регрессионный анализ: Пер. с болг. — М.: Финансы и статистика, 1987. — 239 с.
189. Huber P. Robust statistical procedures. CBMS-NSF regional conference series in applied mathematics. — Philadelphia: Soc. for Industrial and Appl. Mathematics (SIAM), 1996. — 68 p.
190. Хьюбер П. Робастность в статистике: Пер. с англ. — М.: Мир, 1984. — 303 с.
191. Finney D. J. Probit analysis. 3-rd ed. — Cambridge: Cambridge University Press, 1980. — 333 p.
192. Throne J. E., Weaver D. K., Baker J. E. Probit analysis: assessing goodness of fit based in backtransformation and residuals // J. Econom. Entomol. — 1995. — V. 88, No 5. — P. 1513–1516.
193. Seefeldt S. S., Jensen J. E., Fuerst E. P. Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationships // Weed Technology — 1995. — V. 9. — P. 218–227.
194. Fowles J. R., Alexeeff G. V., Dodge D. The use of benchmark dose methodology with acute inhalation lethality data // Regulatory Toxicology and Pharmacology. — 1999. — V. 29, No 3. — P. 262–278.

195. Кукса А. И. Использование ГИС для системного анализа экобиомедицинских данных в контексте оценивания рисков. Часть 1: Общая характеристика предметной области и возникающих проблем // Проблемы программирования. — 2003. — No 4. — С. 72–81.
196. Лошадкин Н. А., Гладких В. Д., Голденков В. А., Синицын А. Н., Дарьина Л. В., Буланова Л. П. Пробит-метод в оценке эффектов физиологически активных веществ при низких уровнях воздействия // Рос. хим. журн. — 2002. — Т. 46, No 6. — С. 63–67.
197. Ахим Б., Цефель П. SPSS: искусство обработки информации. Анализ статистических данных и восстановление скрытых закономерностей: Пер. с нем. — СПб.: ООО «ДиаСофтЮП», 2005. — 608 с.
198. www.polekhin-alex.narod.ru/Probit_Analysis.zip
199. Russel R. M., Robertson J. L., Savin N. E. POLO: a new computer program for probit analysis // Bull. Entomol. Soc. Am. — 1977. — V. 23. — P. 209–213.
200. Throne J. E., Naylor A. F. Comparisons of regression constants fitted by maximum likelihood to four common transformations of binomial data // Ann. Hum. Genet. — 1964. — V. 27. — P. 241–246.
201. Басиль Е. Е., Изотов С. А. Анализ и выбор модели зависимости «доза-эффект» при оценке загрязнения атмосферы // Тр. Одесского политехнического ун-та. — 1998. — Вып. 2 (6). www.library.ospu.odessa.ua/online/periodic/opu_98_2/index.htm#Ecolog
202. Лахтин Л. К. Кривые распределения и построение для них интерполяционных формул по способам Пирсона и Брунса. — М., 1922. — 152 с.
203. Prevéy P. S. The use of Pearson VII distribution functions in X-ray diffraction residual stress measurement // Adv. in X-Ray Analysis. — 1986. — V. 29. — P. 103–111.
204. Loh S, Krishnan P. Pearson Type I approximation of human mortality curve // Population Reprints. — 1986. — No. 82. — P. 429–432.

205. Zografos K. On maximum entropy characterization of Pearson's type II and VII multivariate distributions // J. Multivariate Analysis. — 1999. — V. 71. — P. 67–75.
206. Nagahara Y. The PDF and CF of Pearson type IV distributions and the ML estimation of the parameters // Stat. Prob. Lett. — 1999. — V. 43. — P. 251–264.
207. Gutierrez-Jaimez R., Jimenez-Lopez J. D. On the efficiency property of the linear estimators in the bivariate Pearson type VII distribution // J. Stat. Comp. and Simul. — 2002. — V. 72, No 12. — P. 937–948.
208. Aleksandrov M. S., Ivanov V. S., Sovkov V. B. Approximation of structureless bands in the electron spectra of molecules using Pearson curves // J. Appl. Spectrosc. — 1990. — V. 53, No 2. — P. 827–830.
209. Bogdanic G., Jakab L. Pearson-type I distribution function for polydisperse polymer systems. Molar mass distribution // J. Chem. Inf. Comput. Sci. — 2003. — V. 43. — P. 880–884
210. Нікітіна Н. О. Тест-методи хімічного аналізу з візуальною індикацією: метрологічне забезпечення, нові тест-системи: Дис. ... канд. хим. наук: 02.00.02 / ХНУ імені В.Н. Каразіна. — Харків, 2006. — 140 с.
211. Бугаевский А. А., Зухер Хуари, Кравченко В. А. Исследование предела обнаружения капельной реакции на тетрафенил-борат-ион. — Харьков, ХГУ, 1985. — 12 с. Деп. ОНИИТЭХИМ г. Черкасы 25.09.1985, No 2301.
212. Мостеллер Ф., Тьюки Дж. Анализ данных и регрессия: Пер. с англ. Т. 1–2. — М.: Финансы и статистика, 1982. — 560 с.
213. Vandemer H., Otto M. Fuzzy theory in analytical chemistry // Mikrochim. Acta. — 1986. — No. 2. — P. 93–124.
214. Орловский С. А. Проблемы принятия решений при нечеткой исходной информации. — М.: Наука, 1981. — 208 с.
215. Кофман А. Введение в теорию нечетких множеств. — М.: Радио и связь, 1982. — 432 с.
216. Назаренко А. Ю., Сухан В. В., Назаренко Н. А. Применение теории нечетких множеств для обработки результатов анализа // Зав. лаб. — 1991. — Т. 57, No 10. — С. 63–65.

217. Светлова Н. В., Никитина Н. А., Решетняк Е. А., Островская В. М. Тест-метод определения кадмия с помощью индикаторной бумаги и его метрологические характеристики // Тези доп. П'ятої Всеукр. конф. студентів та аспірантів «Сучасні проблеми хімії». — Київ, 2004. — С. 154.
218. Островская В. М., Решетняк Е. А., Никитина Н. А., Давидовский Н. В. Визуальные тест-методы анализа вод с использованием индикаторных полос и их метрологические характеристики // Тез. докл. конгресса “ЭКВАТЭК-2004”, Москва. — 2004. — С. 831.
219. Островская В. М., Решетняк Е. А., Холин Ю. В., Никитина Н. А. Статистическая оценка предела обнаружения заданных сумм металлов индикаторными средствами // Тез. докл. Межд. форума «Аналитика и аналитики» — Воронеж, 2003. — С. 115.
220. Никитина Н. А., Решетняк Е. А., Логинова Л. П. Желатиновые пленки в тестовом анализе тяжелых металлов // Вест. БГТУ им. В.Г. Шухова. — 2004. — No 8. — С. 110.
221. Никитина Н. А. Желатиновые пленки в тестовом анализе тяжелых металлов // Тез. докл. Междун. научн. конф. «Каразинские естественнонаучные студии» — Харьков, 2004. — С. 190–191.
222. Решетняк Е. А., Логинова Л. П., Никитина Н. А., Сотник Н. С. Тест-метод определения суммы металлов с применением желатиновых пленок // Тез. докл. II Всерос. симп. «Тестовые методы химического анализа» — Саратов, 2004. — С. 20.
223. Решетняк Е. А., Никитина Н. А., Логинова Л. П., Мchedlov-Петросян Н. О., Светлова Н. В. Протолитические и комплексобразующие свойства индикаторов в среде желатинового геля // Вісн. Харк. нац. ун-ту. — 2005. No 669. — Хімія. Вип. 13 (36). — С. 67–82.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА 1. КАЧЕСТВЕННЫЕ ТЕСТ-МЕТОДЫ	
1.1. Качественные тесты и скрининг массовых проб	9
1.2. Химические тест-средства	13
ГЛАВА 2. МЕТРОЛОГИЯ СКРИНИНГА	
2.1. Метрологические характеристики, используемые при валидации аналитических методик	20
2.2. Метрологические характеристики методик обнаружения с бинарным откликом	23
ГЛАВА 3. ПРИНЦИПЫ И РАСЧЕТНЫЕ ПРОЦЕДУРЫ ПОДБОРА КРИВЫХ ЭФФЕКТИВНОСТИ	
3.1. Подходы к выбору функций, аппроксимирующих концентрационную зависимость вероятности обнаружения аналита	35
3.2. Вычисление параметров функций, представляющих кривые эффективности	37
3.3. Подбор кривых «доза-эффект» в пробит-анализе	54
3.4. Подбор кривых эффективности на основе системы функций плотности Пирсона	57
ГЛАВА 4. ИСПЫТАНИЕ ПРОЦЕДУР ПОДБОРА КРИВЫХ ЭФФЕКТИВНОСТИ НА ЭМПИРИЧЕСКИХ ДАННЫХ	
4.1. Сопоставление различных функций распределения	65
4.2. Сопоставление способов назначения статистических весов	78
4.3. Результаты аппроксимации частот обнаружения с помощью кривых Пирсона	85
4.4. Робастное оценивание на основе использования теории нечетких множеств	86

**ГЛАВА 5. МЕТОДИКИ ПРИГОТОВЛЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ
НЕКОТОРЫХ ТЕСТ-СРЕДСТВ ОБНАРУЖЕНИЯ АНАЛИТОВ**

5.1.	Реагентные индикаторные бумаги	93
5.2.	Тест-средства на основе пенополиуретана	94
5.3.	Тест-средства на основе метилкремниевой кислоты	95
5.4.	Тест-средства на основе желатиновых пленок для обнаружения тяжелых металлов	96
5.5.	Тест-средства на основе желатиновых пленок для обнаружения первичных ароматических аминов	97
5.6.	Тест-средства на основе желатиновых пленок для обнаружения восстановителей	98
5.7.	Тест-средства на основе желатиновых пленок для обнаружения нитроксолина	98
5.8.	Тест-система для обнаружения тетрафенилборат-иона	99
5.9.	Тест-средства на основе ксерогелей	99

ЗАКЛЮЧЕНИЕ 102**ЛИТЕРАТУРА 104**

Монографія

Холін Юрій Валентинович
Нікітіна Наталія Олександрівна
Пантелеймонов Антон Віталійович
Решетняк Олена Олександрівна
Бугаєвський Олександр Анатолійович
Логінова Лідія Павлівна

**МЕТРОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ
МЕТОДИК ВИЯВЛЕННЯ
З БІНАРНИМ ВІДГУКОМ**

(російською мовою)

Відповідальний за видання: А. М. Тимченко
Комп'ютерна верстка: Ю. Л. Чумаков

Підписано до друку 20.10.2008 р. Формат 60×84 $\frac{1}{16}$. Папір офсетний.
Гарнітура Питербург. Друк офсетний. Ум. друк. арк. 8.
Обл.-вид. арк. 8,7. Наклад 300 прим. Замовлення № _____

Приватний підприємець Тимченко Андрій Миколайович
61124, Україна, м. Харків-124, а/с 2249
Тел./факс: (057) 771-08-63
e-mail: trade@timbooks.com.ua
www.TimBooks.com.ua

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до державного реєстру видавців,
виготівників і розповсюджувачів видавничої продукції
ДК № 1850 від 21.06.04 р.

Віддруковано відповідно до якості наданих діапозитивів у друкарні
ФОП «Білетченко», т. (057) 758-35-98

Ю. В. Холин, Н. А. Никитина, А. В. Пантелеймонов,
Е. А. Решетняк, А. А. Бугаевский, Л. П. Логинова

Метрологические характеристики методик обнаружения с бинарным откликом

Харьков
Тимченко
2008